

徳島大学博士論文

水生生物への毒性が懸念される防菌・防カビ剤の  
河川環境中の動態に関する研究  
～持続可能な地域河川環境の構築をめざして～

平成 25 年 9 月

徳島大学大学院

総合科学教育部

田村 生弥

# 目 次

<b>第1章 緒論</b>	<b>1</b>
1.1 本研究の背景・目的 .....	1
1.2 本研究の対象河川 .....	7
<b>第2章 河川環境中での残留性・分配</b>	<b>11</b>
2.1 河川水を用いた生分解試験 .....	11
2.1.1 理論 .....	11
2.1.2 試験方法 .....	12
2.1.3 結果と考察 .....	14
2.2 太陽光を用いた光分解試験 .....	19
2.2.1 理論 .....	19
2.2.2 試験方法 .....	20
2.2.3 結果と考察 .....	22
2.3 底質への収着試験 .....	27
2.3.1 理論 .....	27
2.3.2 試験方法 .....	28
2.3.3 結果と考察 .....	29
<b>第3章 試験用水生生物を用いた毒性試験</b>	<b>37</b>
3.1 急性毒性試験 .....	37
3.1.1 実験方法 .....	37
3.1.1.1 ムレミカヅキモ生長阻害試験	
3.1.1.2 オオミジンコ遊泳阻害試験	
3.1.1.3 ヒメダカ急性毒性試験	
3.1.1.4 毒性試験における試験物質の濃度測定	
3.1.2 結果と考察 .....	41
3.2 慢性毒性試験 .....	45
3.2.1 実験方法 .....	45
3.2.1.1 ムレミカヅキモ生長阻害試験	
3.2.1.2 ニセネコゼミジンコ繁殖毒性試験	
3.2.1.3 ゼブラフィッシュ胚・仔魚期短期毒性試験	
3.2.2 結果と考察 .....	48
3.3 環境中濃度 .....	54

3.4 生態リスク初期評価 .....	55
---------------------	----

<b>第4章 試験用底生生物セスジユスリカを用いた毒性試験</b>	<b>66</b>
4.1 セスジユスリカを用いた防菌・防カビ剤の毒性試験 .....	66
4.1.1 理論と試験方法.....	66
4.1.2 結果と考察 .....	68
4.2 セスジユスリカを用いた河川底質の毒性試験 .....	70
4.2.1 理論と試験方法.....	70
4.2.2 結果と考察 .....	71
4.3 底質濃度測定.....	75
4.3.1 理論と試験方法.....	75
4.3.2 結果と考察 .....	76
4.4 生態リスク初期評価 .....	77

<b>第5章 河川環境中における防菌・防カビ剤の動態と全毒性への寄与率</b>	<b>80</b>
5.1 河川環境中における防菌・防カビ剤の挙動の推定 .....	80
5.1.1 河川環境中に排出される防菌・防カビ剤量の推定 .....	80
5.1.2 河川中での挙動.....	84
5.2 全毒性に対する防菌・防カビ剤の毒性の寄与 .....	89
5.2.1 寄与推定 .....	89
5.2.2 寄与推定結果 .....	91
5.3 防菌・防カビ剤4種の環境中動態と毒性影響の全体図.....	99
5.4 本研究のまとめ .....	102

<b>第6章 結論</b>	<b>106</b>
---------------	------------

<b>参考文献</b>	<b>112</b>
-------------	------------

<b>Appendices</b>	<b>119</b>
-------------------	------------

本論文の基礎となる論文(主論文)	141
本論文に関係あるその他の論文	142
その他の論文	143
謝辞	144

# 第1章 緒論

## 1.1 本研究の背景・目的

河川環境における水質汚濁の歴史的背景を振り返った際、日本では東京オリンピックから昭和 40 年頃までの高度経済成長の過程で工業生産の規模の増大や都市部への人口集中が起こり、その結果としてさまざまな水質の問題が発生してきた。特に、四大公害の一つである水俣病やイタイイタイ病に代表されるように、十分な処理がされないまま工場排水から水環境中に流入した重金属類が魚介類に対して悪影響を及ぼすだけでなく、それらを摂取した人間に深刻な健康被害を生じさせた。また、同時期には、十分な処理がされていない工場排水や家庭排水中の有機物の環境中への流入により、生物化学的酸素要求量(BOD)が上昇し、有機汚濁負荷に伴う魚の大量死や製紙パルプ工場等からの排水により生じた大量のヘドロ、難分解性の洗剤成分の分岐鎖型アルキルベンゼンスルホン酸による河川での発泡などが全国的に非常に深刻な問題であった。このような深刻な水質汚濁の問題を改善するために、水質汚濁防止法が昭和 45 年に、また公害国会を経て環境庁が昭和 46 年に発足した。このことによって下水道や工場の排水施設の整備、洗剤のソフト化などが進み、上記の問題は昭和 50 年代には徐々に改善していった<sup>1)</sup>。

続いて昭和 50 年代に問題になったのは、排水中の窒素やリンといった栄養塩の問題であり、瀬戸内海や琵琶湖などの閉鎖性水域において富栄養化に伴う赤潮やアオコ

を発生させ、水生生物の生息環境に悪影響を及ぼした。このことから、瀬戸内海をはじめ、東京湾などの閉鎖性水域の流域河川に放流する事業所には総量規制が行なわれるようになったほか、洗剤の無リン化、栄養塩を取り除く下水の高度処理などが行なわれるようになり、改善が進んだ。

法律の整備や排水処理の発達に伴って河川などの水質は大幅に改善されるなど、日本は環境先進国として再生された一方で、平成になってから新たに問題になってきたのは、農薬類や塩素消毒の副生成物等の揮発性有機物質(Volatile Organic Compounds, VOC)、ソフト化後の直鎖アルキルベンゼンスルホン酸(LAS)といった多種多様な微量有機汚染化学物質である。これらの物質は、非常に濃度は低いものの、水生生物への有害影響のほか、発ガン性や変異原性が疑われるようになった。また、近年は新たな微量汚染化学物質として、生物濃縮性が高く食物連鎖の高次動物に濃縮しやすい残留性有機汚染物質(Persistent Organic Pollutants: POPs)をはじめ、二次性徴や繁殖に影響を及ぼす恐れのある内分泌かく乱物質(環境ホルモン)が注目されている。また、日本では保健行政や医療の高度化、家庭や学校における衛生教育の徹底が、小児の感染症の予防やそれに伴う平均寿命の向上に大きく寄与してきた経緯があり、この衛生管理を支えるものとして PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products)と総称して呼ばれる抗細菌剤、抗真菌剤や防カビ剤を含む医薬品及びその関連製品、パーソナルケア製品、化粧品や動物用医薬品等の貢献が挙げられ、これらは現在日常的に使用されてい

る。環境先進国，そして衛生先進国として発展してきた日本では，パーソナルケア製品の使用量の増加しており，下水道整備の遅れた地域，都市下水の排水口付近や下水汚泥が再利用された土壌において，これらによる新しい形態の環境汚染が進もうとしている。そこで，本研究は下水道の整備が遅れている徳島県徳島市内を流れる小型の田宮川と冷田川の流域を研究対象として，未処理家庭排水が流入することの河川環境に与える影響について，防菌・防カビ剤による水生生物への影響に主眼を置き研究を行った。

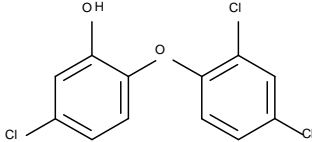
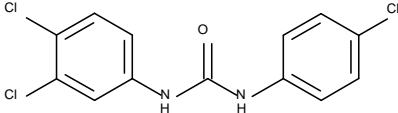
家庭等で使用された防菌・防カビ剤などの人工化学物質は，一般的には下水処理場や浄化槽での処理後に河川などの水環境中に放出される。しかし，全国で下水道整備率が最下位の徳島県（平成 24 年 3 月現在の下水道整備率：15.5%，同污水处理整備率 51.1%<sup>2)</sup>）やその他の下水道整備が不十分な国内の地域ならびに新興国・途上国の大部分<sup>3)</sup>では，汚水の内し尿は単独浄化槽やし尿処理場などで何らかの処理がされているが，家庭雑排水は未処理のまま放流される可能性が高い。家庭雑排水中に含まれる汚染物質の一部は太陽光中の紫外線を主に吸収して光分解を受けるほか，河川水中に存在する微生物によって生分解を受ける。しかしながら，光分解や生分解で速やかに分解される物質でも，非常に負荷量が大きい物質は水中から高濃度で検出される可能性がある。また，河川の流下速度に比べて物質の生分解や光分解速度が遅い場合や，夜間や暗渠などで十分な光分解を受けない場合は，汚染物質が河川水中に残留する可

能性がある。さらに、光分解も生分解もしにくい難分解性物質は、使用・廃棄量が多い場合は水中に比較的高濃度で残留する。このような水中に原体のまま残留した物質のうち、水生生物に対する毒性が強い物質は比較的高い生態リスクが懸念される。さらに、比較的低水溶性が高く、底質への収着係数が高い物質は、水中で十分に光分解や生分解される前に河川底質へ収着して、残留・蓄積する。低水溶性が高い物質は生物へも取り込まれやすいため、一般的に毒性が強いことが多く、底生生物への比較的高いリスクが懸念される。本研究では、主要な用途として医薬品や化粧品に配合されており、家庭排水中に排出されると考えられる防菌・防カビ剤のうち、Table 1.1 に示されている triclosan, triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanol の4物質を主な対象物質とした。

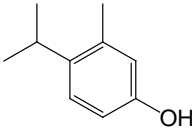
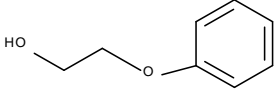
川上ら<sup>3A)</sup>は、triclosan を含む様々な医薬品や日用品由来化学物質について、海洋性発光細菌 *Vibrio fischeri* を用いて発光阻害を簡易に測定する Microtox 試験や、マイクロプレートを用いた簡易な藻類生長阻害試験、オオミジンコを用いた急性遊泳阻害試験の3種の栄養段階の異なる水生生物を用いた生態毒性試験を実施している。その結果、triclosan を含む抗菌剤のほとんどは藻類に対する毒性が最も強く、河川水中濃度と比較する生態リスク初期評価を実施した際には triclosan や clarithromycin などが「詳

細な評価を行う候補」に挙げられている。

Table 1.1 対象とした防菌・防カビ剤の名称，主な用途，化学構造，CAS 登録番号および log K<sub>ow</sub> (\*：米国環境保護庁の作成したソフトウェア EPI Suite による予測値)

化合物名	triclosan (2,4,4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether)	triclocarban (3,4,4'-trichlorocarbanilide)
主な用途	殺虫剤，樹脂添加剤， 医薬部外品添加物 (殺菌消毒剤) <sup>4)</sup>	医薬部外品添加物 (薬用石けん，防腐剤，殺菌剤) <sup>4)</sup>
化学構造		
CAS 登録番号	3380-34-5	101-20-2
log K <sub>ow</sub>	4.76 <sup>5)</sup>	4.90* <sup>6)</sup>

化合物名	<i>p</i> -thymol (4-isopropyl-3-methylphenol)	phenoxyethanol (2-phenoxyethanol)
主な用途	化粧品原料，酸化防止剤 <sup>4)</sup>	香料保留剤，殺菌剤，防虫剤，織物 なっ染助剤，写真フィルム添加剤， 塗料防カビ剤 <sup>4)</sup>
化学構造		
CAS 登録番号	3228-02-2	122-99-6
log K <sub>ow</sub>	3.52* <sup>6)</sup>	1.16 <sup>5)</sup>



小森ら<sup>7)</sup>によると、triclosan等の医薬品や化粧品などのパーソナルケア製品に由来する物質は、下水道整備地域の河川より、下水道未整備地域の小河川では、濃度が特異的に高くなる傾向があることが報告されている。これは、下水道整備地域ではこれらの化学物質は人間活動によって使用された後に下水処理場で処理されるが、下水道未整備地域では、し尿のみを処理する単独浄化槽やし尿汲み取り方式が残っており、家庭排水が未処理のまま放流される場合があることに起因している。上記の物質のうち triclosan は、水生生物の藻類やミジンコなどに対して非常に強い毒性を示す<sup>8,9)</sup>ほか、魚類の筋力を低下させることも近年報告<sup>10)</sup>されており、水生生物への有害影響が懸念されている<sup>7)</sup>。triclosan と用途が類似している triclocarban については、水生生物への毒性影響に関する情報が不足している<sup>11)</sup>。さらに、triclosan と triclocarban はともに比較的疎水性が高いため底質に収着しやすく、河川水中だけでなく国内外の河川や河口底質中からも数〜数十 ng/g で検出されており<sup>12-15)</sup>、水生生物に加えて底生生物への有害影響も懸念される。Dussault<sup>16)</sup>らは、底生生物のユスリカ・ヨコエビに対する triclosan 等の生態リスク評価を行っており、triclosan は至急詳細な評価を行う必要があると報告している。このように、triclosan は生態リスクが高い物質として認識されており、triclocarban もその恐れがある一方で、それ以外にも様々な防菌・防カビ剤が医薬品、化粧品等に使用されている。本研究では triclosan と triclocarban のほかに、その代替品として使用される *p*-thymol、化粧品などの防腐剤として使用されるパラベン

類<sup>17)</sup>の代替品として使用される **phenoxyethanol** を対象物質として選定した(Table 1.1)。

上記の4物質について、人間生活での使用・廃棄後の河川環境中での動態（生分解性、光分解性、底質への収着）と試験水生生物として代表的な魚類のヒメダカ、ゼブラフィッシュ、甲殻類のオオミジンコ、ニセネコゼミジンコ、緑藻類のムレミカヅキモおよび試験底生生物のセスジユスリカの幼虫に対する毒性影響を調べることを目的とした。また、これらの実験結果をもとに、各防菌・防カビ剤の実際の河川環境中の挙動と、その全体の毒性に対する寄与を推定して総合的に評価し、各物質に適した対策を検討することを本研究の目的とした。

## 1.2 本研究の対象河川

先述したように、医薬品や化粧品に主に使用される防菌・防カビ剤は、下水道未整備地域で家庭排水が未処理のまま放流された際に、下水道整備地域よりも特に高濃度で存在し、生態リスクが高くなる可能性が指摘されている<sup>7)</sup>。そこで、下水道未整備の住宅地を流れる河川である徳島県徳島市の田宮川の蔵本公園・西消防署前付近（徳島市庄町）と冷田川の川南橋付近（徳島市八万町）を実態調査の対象地域として選定した。また、収着試験用の底質試料採取場所として、上記の田宮川蔵本公園・西消防署前付近と砂質の底質が採取可能な鮎喰川梁瀬橋付近を選定した。対象河川の流域人口と流域面積、延長を Table 1.2 に、周辺の地図を Figure 1.1 に示す。

Table 1.2 対象河川の流域人口，流域面積と延長

	田宮川	冷田川	鮎喰川
流域人口	11,000 人	6,500 人	7,000 人
流域面積	2.7 km <sup>2</sup>	2.7 km <sup>2</sup>	199 km <sup>2</sup>
延長	約 5 km	約 4 km	43 km

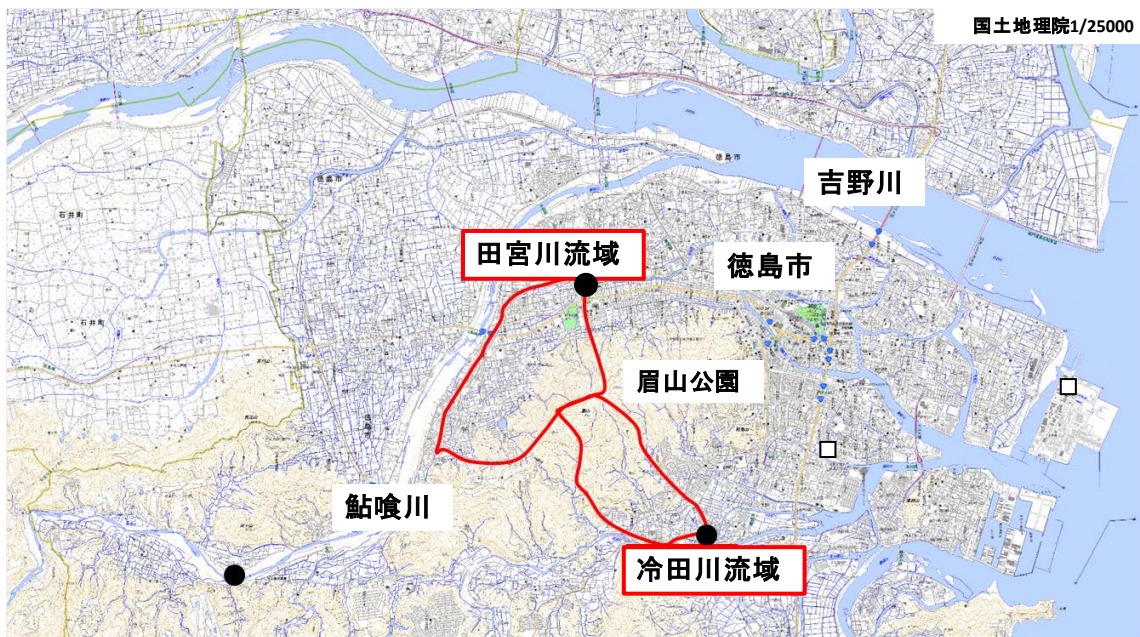


Figure 1.1 実態調査実施・底質試料採取地点と周辺の地図

(●：試料採取地点，□：下水処理場)

田宮川は流路延長が約 5 km の準用河川で，名東町付近を源流として鮎喰町にある袋井用水での湧水地点を経て，加茂名小学校付近を經由して住宅地の中を東流し，田宮・佐古などを経て新町川に合流している。県道徳島引田線の橋梁付近に堰があり，その下流は感潮域であり海水が浸入している。徳島県内の公共用水域の水質測定結果<sup>18)</sup>によると，堰のやや下流の島田石橋付近で BOD 年平均値が 3.2 mgO<sub>2</sub>/L となって

おり、生活排水による汚染度が比較的高い河川といえる。実態調査・底質試料採取地点付近より上流部の流域人口は 11,000 人、流域面積は 2.7 km<sup>2</sup>と推定される。採取地点付近では川幅は 5.0 m、水深は 15~30 cm で、護岸はコンクリートで覆われており、河底には 1 cm 程度の底泥が存在する。

冷田川は流路延長が約 4 km の準用河川で、八万町新貝付近の園瀬川からの取水地点が源流である。源流部の直下流で二手に分かれ、一方は山沿いに住宅地の間を流れて柿谷団地付近を流れ、他方は大坪団地などの住宅地の間を流れており、園福寺付近で再び合流している。その下流は八万町橋本や川南を経て繊維卸団地の南を東流して沖浜、山城町を経て園瀬川に流入している。河口部には高潮対策と海水の浸入を防ぐために排水ポンプを併設した水門が設置されている。上記の徳島県による水質測定結果<sup>18)</sup>によると、川南橋と河口の間にある冷田橋で BOD 年平均値が 3.4 mgO<sub>2</sub>/L と、田宮川と同等に、生活排水による汚染度の高い河川といえる。実態調査・底質試料採取地点付近より上流部の流域人口は 6,500 人、流域面積は 2.7 km<sup>2</sup>と推測される。採取地点付近では川幅は 6.4 m、水深は 11~20 cm で、護岸はコンクリートで覆われており、河底には 1 cm 程度の底泥が存在する。

鮎喰川は、流路延長が 43 km の一級河川吉野川水系の支流であり、神山町と美馬市木屋平・那賀町との市町境の四国山地東部を源流とする河川である。上流部に位置する神山町には下水道は全く整備されておらず、合併浄化槽等の普及率は 32.8%に留ま

っている。しかしながら、上記の水質測定結果<sup>18)</sup>によると、河川底質の採取地点である中流部の梁瀬橋付近の BOD 年平均値は 0.5 mgO<sub>2</sub>/L とかなり良好な水質となっており、豊富な水量による排水の希釈と、自然の水質浄化作用のはたらきによるものと考えられる。

なお、徳島市全体での下水道普及率が 29.0%、合併浄化槽普及率は 39.5%<sup>2)</sup>だが、田宮川と冷田川ともに採取地点の上流域には下水道が整備されていない。下水道未整備地域の汚水処理人口普及率を単純に計算すると 55.6%と推定され、上記二河川ともに流域人口の 44.4%が家庭雑排水を未処理のまま放流していると推定される。

## 第2章 河川環境中での残留性・分配

### 2.1 河川水を用いた生分解試験

#### 2.1.1 理論

生分解反応は、活性を有する微生物濃度と、対象物質（本研究では防菌・防カビ剤）濃度の両方が関与する二次反応であると考えられる。しかしながら、比較的容易に生分解が進む陰イオン界面活性剤の LAS のような物質が 0.1 mg/L 程度の低濃度で存在する系では、微生物濃度を一定と仮定することにより、対象物質濃度の一次反応に単純化できた<sup>19,20)</sup>。その一方で、防腐剤パラベン類についてはその理論が当てはまらず、実験開始直後はほとんど分解が進まず、10~30 時間程度の馴化期間の後に急激に分解が進むことが報告されている<sup>21)</sup>。本研究では、医薬品を対象とした既報<sup>22)</sup>と同様に、まずは単純な一次反応と仮定して以下の式でモデル化し、一次反応速度定数  $k_b$  を算出した。

$$C = C_0 \exp (-k_b t) \quad (2.1)$$

ここで  $t$ : 経過時間,  $C$ : 時間  $t$  後の濃度,  $C_0$ : 初期濃度を指す。なお, ここで横軸に時間  $t$ , 縦軸に変化率( $C/C_0$ )の対数値  $\ln(C/C_0)$  を取ってプロットした場合, その傾きが  $k_b$  になる。また, 半減期  $t_{1/2}$  は以下の式で算出できる。

$$t_{1/2} = -1/k_b \ln(1/2) \quad (2.2)$$

しかしながら，一次反応や二次反応が組み合わさった複雑な複合反応の場合は，反応次数を仮定せずに，その次数を決定する方法もある。反応次数の決定方法については Appendix A に示す。

### 2.1.2 試験方法

河川水による生分解試験は，経済協力開発機構(OECD)化学品テストガイドライン No.301A の河川水消失試験<sup>23)</sup>を改変した方法<sup>22)</sup>で実施した。本来の No.301A は活性汚泥，下水放流水，表層水，土壌を混合した植種源を試験系に添加し，溶存有機炭素濃度の減少から生分解性を測定する。しかし，本研究では河川水に防菌・防カビ剤を添加し，その濃度の減少から河川水中の微生物による生分解性を測定した。この方法は既報<sup>22)</sup>で河川水中の医薬品等の分解性を検討するために有効な方法であることが確認されている。

本研究で使用した防菌・防カビ剤の製造元・グレードを Appendix B に示す。河川水は徳島市内の下水道未整備地域を流れる冷田川の川南橋付近で 2012 年 3 月(4 物質について実施，*p*-thymol についてのみ採用)および 12 月 (triclosan, triclocarban,

phenoxyethanol の 3 物質は 3 月時の実験結果の誤差が大きかったために再実験を実施) に採取した。3  $\mu\text{m}$  メンブレンフィルター(Omnipore Membrane, ミリポア社製, 孔径 3  $\mu\text{m}$ )でろ過した河川水を 300 mL 三角フラスコに 200 mL 入れ, 対象とする防菌・防カビ剤を初期濃度 0.10 mg/L になるように添加した試料を 2 連(12 月の再実験では 3 連) 用意した。triclocarban は溶解度が低いため初期濃度を 0.03 mg/L とした。blank は, 三角フラスコに純水のみを入れ, 防菌・防カビ剤を添加した系を各物質 2 連(12 月の再実験では 3 連) 用意した。なお, blank としては, 上記のほかに河川水をろ過滅菌した水も考えられるため, 0.2  $\mu\text{m}$  のメンブレンフィルター(ミニザルト RC25, 再生セルロース, ザルトリウス社製)でろ過滅菌した水を使った追加実験を実施した。いずれの系も各 2 連用意し, 温度は冬季を想定して 15  $^{\circ}\text{C}$  に設定し, 暗所で往復振とうした。

各時間に Appendix C の Table C.1 に示す紫外・可視光吸収検出器付高速液体クロマトグラフィー(以下, HPLC とする, 島津製作所製 LP-10ADVP シリーズ)を使用して行った。移動相はメタノールと純水を流速 1.0 mL/min で通液して, 逆相カラム(島津製作所社製 Shim-pack ODS, 150 mm, 内径 4.6 mm, 孔径 5  $\mu\text{m}$ )で分離して定量した。Table C.2 に分析条件を示す。試験水を 0.7  $\mu\text{m}$  のガラス繊維ろ紙(Whatman 社製 GF/F)でろ過し, 外部標準法によって原体の濃度を定量した。なお, 分析の精度と正確度については, 河川水を用いた標準添加法での確認を実施しており, その結果を Appendix C の



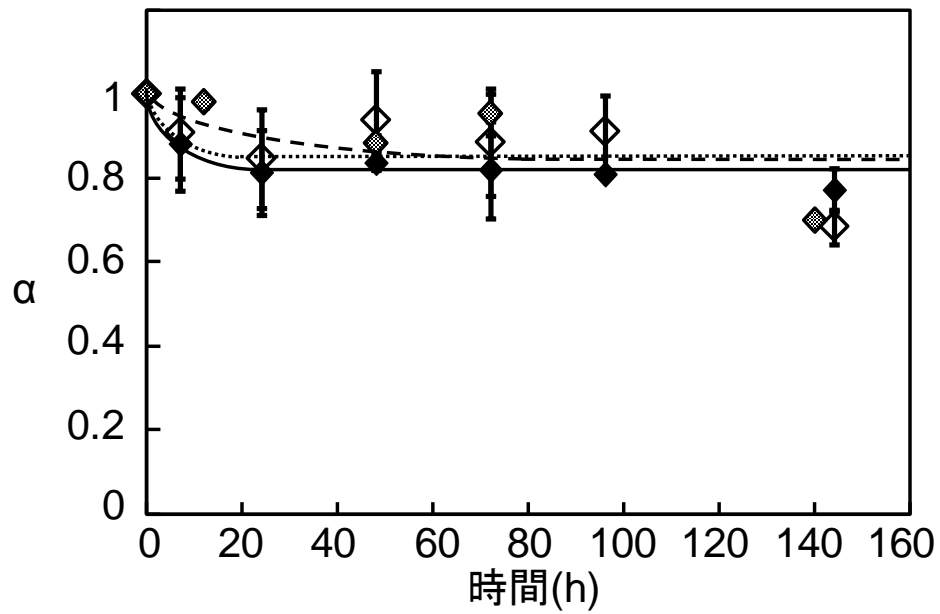
Table C.3 に示す。

### 2.1.3 結果と考察

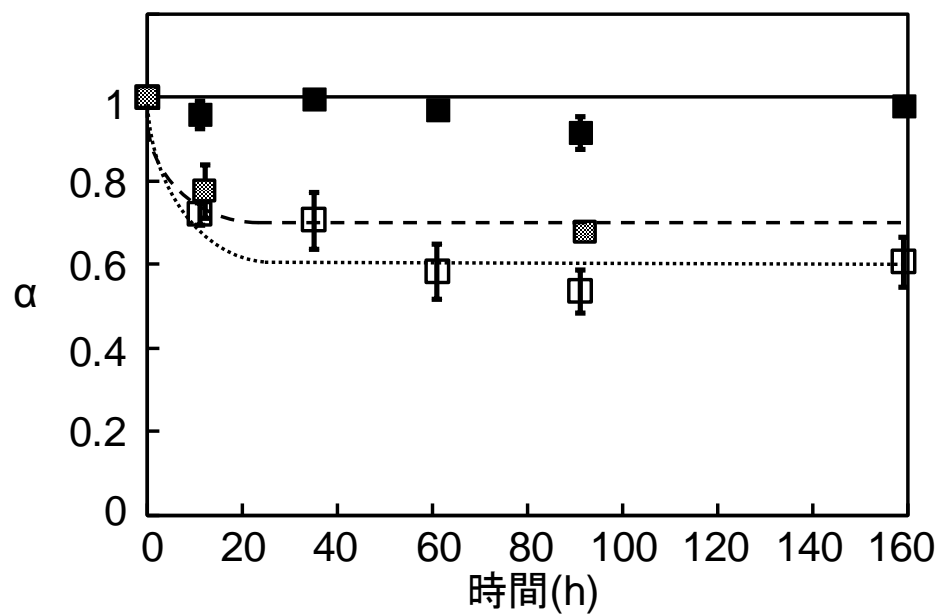
4 種の防菌・防カビ剤濃度の変化率  $\alpha$  の時間変化を Figure 2.1 に示す。triclosan, *p*-thymol は有意な生分解は認められず、コロイドへの吸着も見られなかった。一方, triclocarban は初期濃度からの変化率  $\alpha$  の減少は見られたが、ほぼ一定に推移していることから、河川水中のコロイドなどへの吸着で濃度が減少したと推定される。なお, triclocarban の反応次数を検討するために縦軸を変化率の対数値としたグラフは Appendix A の Figure A.1 に示した。phenoxyethanol は blank でも分解が生じているが、河川水中では blank と比較して減少速度がかなり速く、生分解されていると考えられる。また、縦軸に変化率の対数を取って時間変化を示した Figure 2.2 より phenoxyethanol は直線関係を示し、ほぼ一次反応的に減少していることが分かった。これらの結果から算出した分解率, 反応速度定数および半減期を Table 2.1 に文献値とともに示す。

phenoxyethanol の一次反応速度定数は  $3.7 \pm 0.8 \times 10^{-2}$ , 河川水中の半減期は約 18 時間であり (Table 2.1), 本研究で選定した防菌・防カビ剤の中で最も容易に分解が進んだ。また, phenoxyethanol は純水中でも分解が進み、一次反応速度定数は  $4.4 \times 10^{-3}$ , 半減期は 160 時間であった。この河川水中の値から純水中の減少分を補正した値が河

川水中の微生物による生分解と考えられる(生分解の反応速度定数は  $3.5 \pm 1.5 \times 10^{-2}$ , 半減期は 20 時間)。一方, triclocarban は 61 時間後までに初期濃度の約 60% まで減少したが, 160 時間後も同程度の濃度であり, ほぼ定常状態に達していたと考えられる。そのため, メンブレンフィルターによって除去されないコロイド成分に吸着しているか, 生分解を引き起こす微生物が triclocarban によって不活化されてある一定濃度で分解が停止していたと考えられる。河川水を滅菌ろ過したサンプルでも濃度が減少しており, コロイドへ吸着した可能性が高く, 疎水性が高い性質からも妥当であると考えられる。定常状態における変化率の平均値から推定される吸着率は約 40% であった。

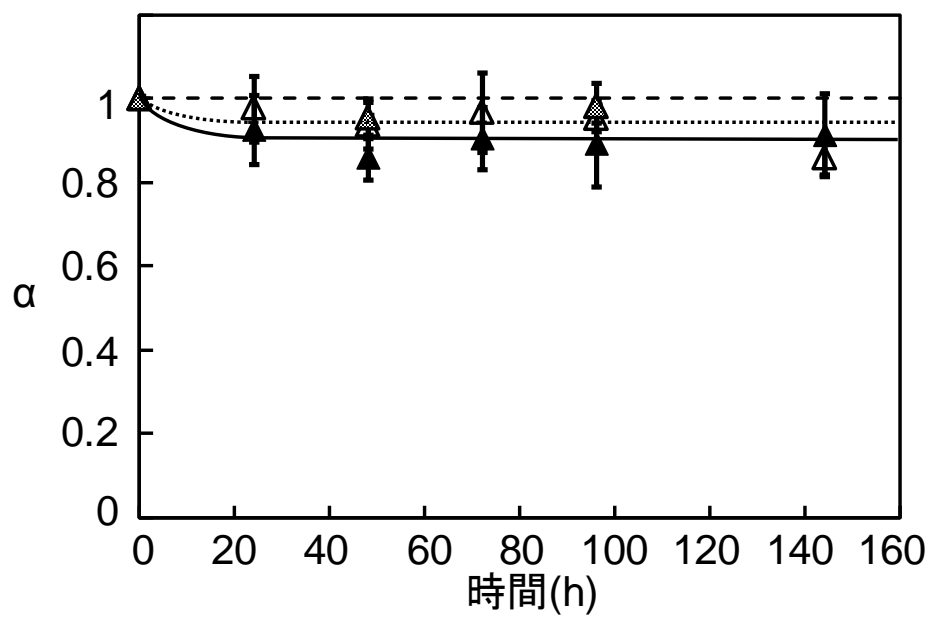


(a)

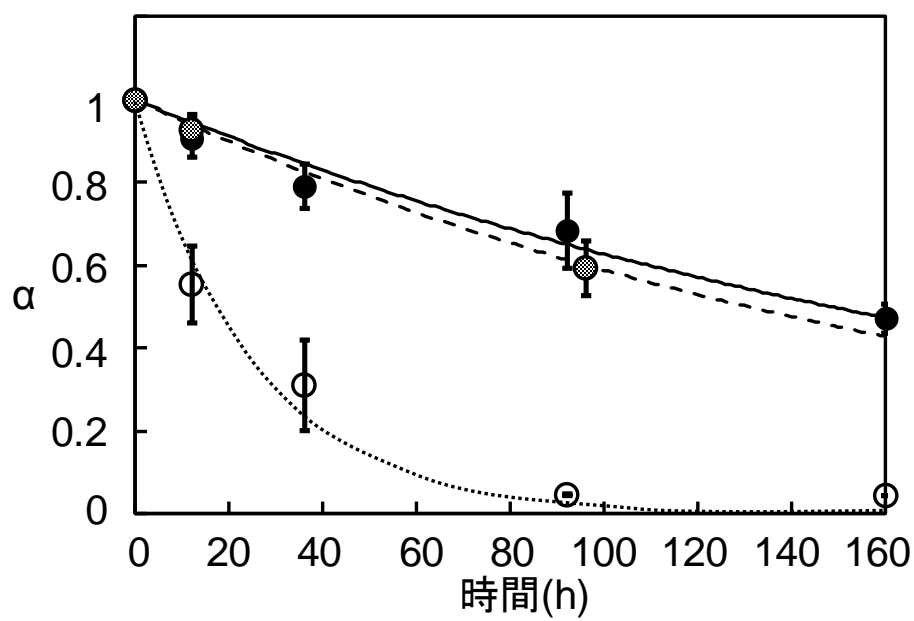


(b)

Figure 2.1 防菌・防カビ剤の河川水を用いた生分解試験における変化率  $\alpha$  の時間変化,  
 (a) triclosan (◇: 河川水, ◆: blank, ◐: ろ過滅菌河川水), (b) triclocarban (□: 河川水, ■: blank, ◐: ろ過滅菌河川水), (c) *p*-thymol (△: 河川水, ▲: blank, ◐: ろ過滅菌河川水),  
 (d) phenoxyethanol (○: 河川水, ●: blank, ◐: ろ過滅菌河川水)



(c)



(d)

Figure 2.1 (続き)

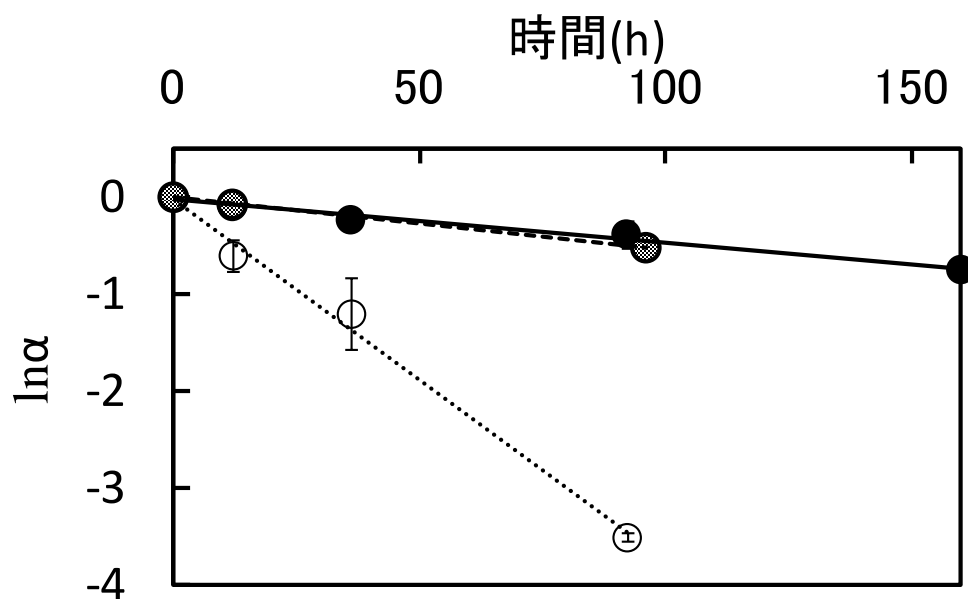


Figure 2.2 防菌・防カビ剤の生分解試験における変化率の対数の時間変化，phenoxyethanol (○:河川水:  $y = -0.037x - 0.014$ ,  $R^2 = 0.99$ , ●: 純水, ●: ろ過滅菌河川水)

Table 2.1 防菌・防カビ剤の生分解試験における分解率，反応速度定数および半減期

物質名	試験終了時 分解率 (%)	反応速度定数 $k_b$ (1/h)	半減期 $t_{b1/2}$ (h)	文献
triclosan	<b><math>32 \pm 4</math></b>	<b>0</b>		本研究
		$1.3 \sim 1.8 \times 10^{-3}$		田村ら <sup>24)</sup>
	99<% (50 日)			Yu ら <sup>25)</sup>
triclocarban	<b><math>40 \pm 6</math></b>	<b>0</b> (コロイド吸着)		本研究
<i>p</i> -thymol	<b><math>14 \pm 0</math></b>	<b>0</b>		本研究
	80% (50 日)			Yu ら <sup>25)</sup>
phenoxyethanol	<b><math>95 \pm 0.5</math></b>	<b><math>3.5 \pm 1.3 \times 10^{-2}</math></b>	<b>20</b>	本研究

triclosan は我々の以前の報告<sup>24)</sup>でも冬季(13°C)はほとんど生分解による減少が確認されず、本研究の結果 (Figure 2.2, Table 2.1) と反応速度定数や半減期(それぞれ、過去の研究で 0.0013~0.0018 1/h) がほぼ一致していた。当該報告<sup>24)</sup>では初期濃度を 1.0 mg/L と比較的高濃度に設定しており、環境中での実際の濃度に比べて 3 オーダー以上高いが、本研究では 10 分の 1 の濃度と実際の環境中濃度に近い濃度で生分解試験を実施したが、結果に大きな変化は観察されなかった。

Yu ら<sup>25)</sup>によると triclosan および *p*-thymol は活性汚泥を使った回分式試験でそれぞれ>99%および 80%分解すると報告されている。この回分式試験は、室温で 50 日間という長時間の試験を行った結果であり、本研究のように経過時間が 4 日程度であれば彼らの報告でも triclosan, *p*-thymol とともにほとんど分解していないことが記載されており、本研究の結果と矛盾しない。

## 2.2 太陽光を用いた光分解試験

### 2.2.1 理論

光分解試験は、生分解試験より単純な防菌・防カビ剤のみが主として存在する純粋な実験系での試験であり、光量をほぼ一定と見なすことができれば、一次反応と仮定できる。試験期間中の全天日射量を日照時間から算出すると 2012 年 3 月が  $10.7 \pm 0.5$ , 2013 年 1 月が  $7.4 \pm 0.7$  MJ/m<sup>2</sup>/d とほぼ一定であることが確認されている (Appendix D

参照)。よって、一次反応であるとし

$$C = C_0 \exp (-k_p t) \quad (2.3)$$

となると見なすことができる。なお、ここで、 $t$ : 経過時間,  $C$ : 時間  $t$  後の濃度,  $C_0$ : 初期濃度,  $k_p$ : 光分解による一次反応速度定数を表す。また、式(2.2)と同様に、光分解による半減期は、

$$t_{1/2} = -1/k_p \ln(1/2) \quad (2.4)$$

で表すことができる。

### 2.2.2 試験方法

太陽光による光分解試験は、米国環境保護庁(USEPA)の農薬有害物質汚染防止局(OPPTS) テストガイドライン 835.2210<sup>26)</sup>に基づき、医薬品類について当研究グループで実施・報告した方法<sup>22)</sup>で石英試験管を用いて実施した。2012 年の 3 月に 4 物質の試験を実施したが、triclosan 以外の triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanol の 3 物質は誤差が大きかったために再試験を 2013 年 1 月に実施した。連続して天候が良い日を選

扱し、Figure 2.3 に示す試験装置を徳島大学総合科学部 3 号館(北緯 34 度 0 分，東経 134 度 34 分)屋上で製作し，朝 8 時から夕方 4 時までの 8 時間太陽光が照射する位置に設置した。夜間は暗所に置いて保管し，次の日再度太陽光を照射させた。アルミホイルで遮光した blank と遮光しない試験区を各 2 連（再試験時は各 3 連）用意し，いずれも pH 7 とするためリン酸緩衝液を 0.02 M となるように添加した。また，対象とした防菌・防カビ剤のいずれかについて初期濃度が 0.10 mg/L となるように添加した。triclocarban のみ溶解度が低いため初期濃度を 0.03 mg/L とした。実験開始から一定時間後の濃度を Appendix C に示す方法により HPLC で測定した。光分解試験では懸濁態を含まないため，ろ過を実施せずに試験水を直接バイアルに採取し，外部標準法によって原体の濃度を定量した。

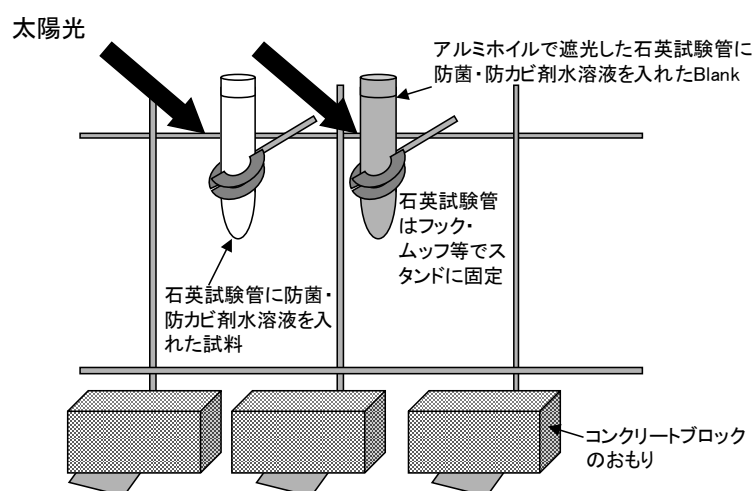
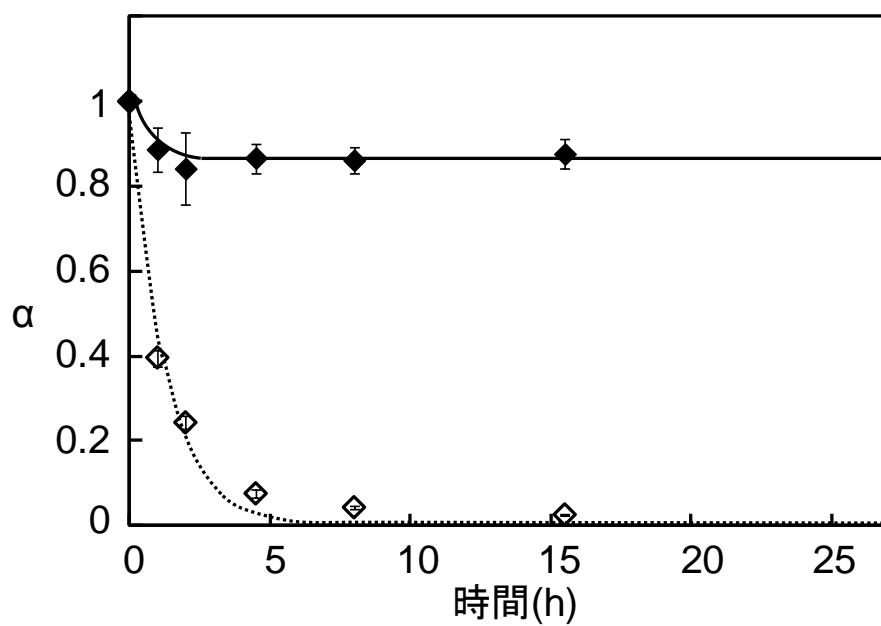


Figure 2.3 光分解試験装置の模式図（各石英試験管に太陽光が同じように当たるように配置；風で装置が転倒しないようにコンクリートブロックによるおもりを設置）

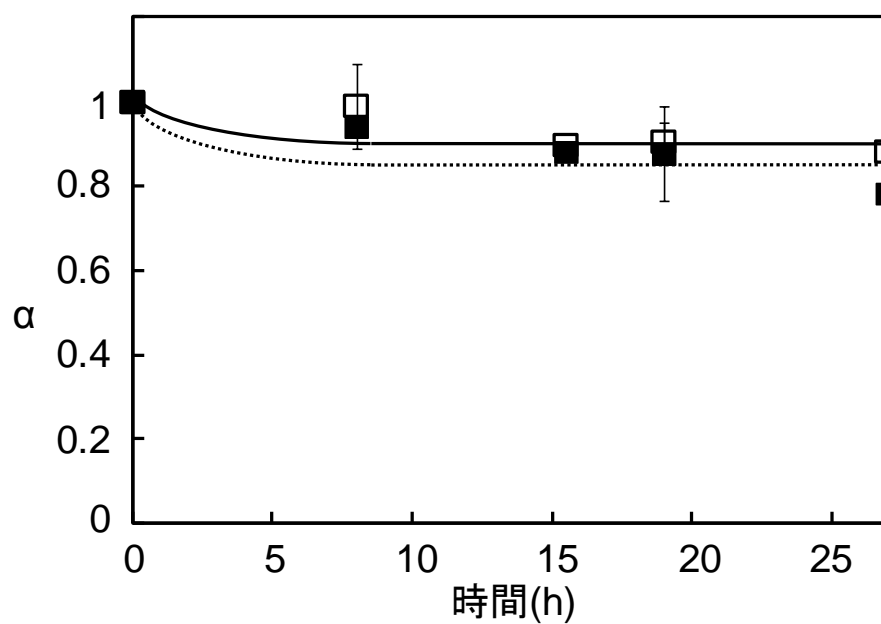


### 2.2.3 結果と考察

光分解試験中の4種の防菌・防カビ剤濃度の時間変化を Figure 2.4 に示す。また、これらの結果から算出した分解率、一次反応速度定数および半減期を文献値とともに Table 2.2 に示す。

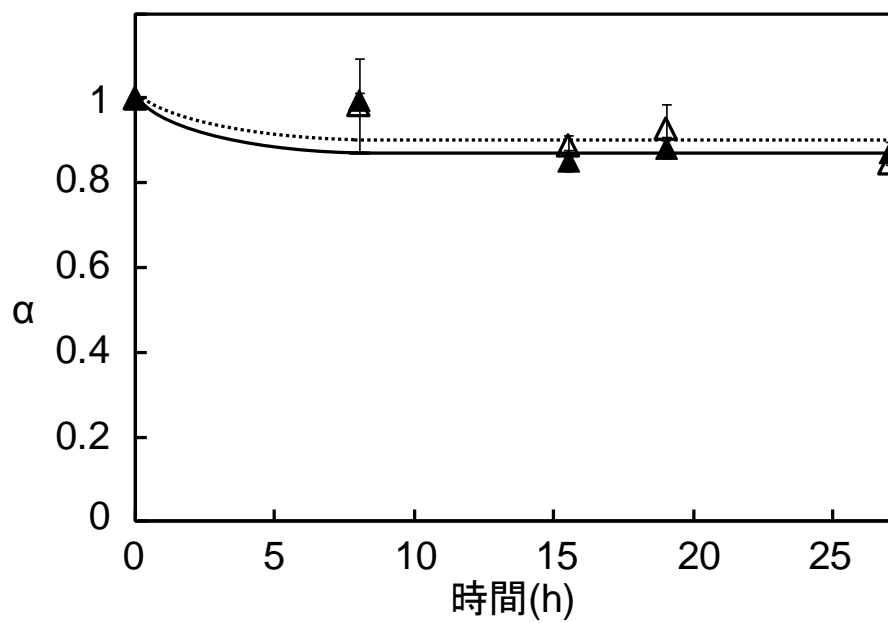


(a)

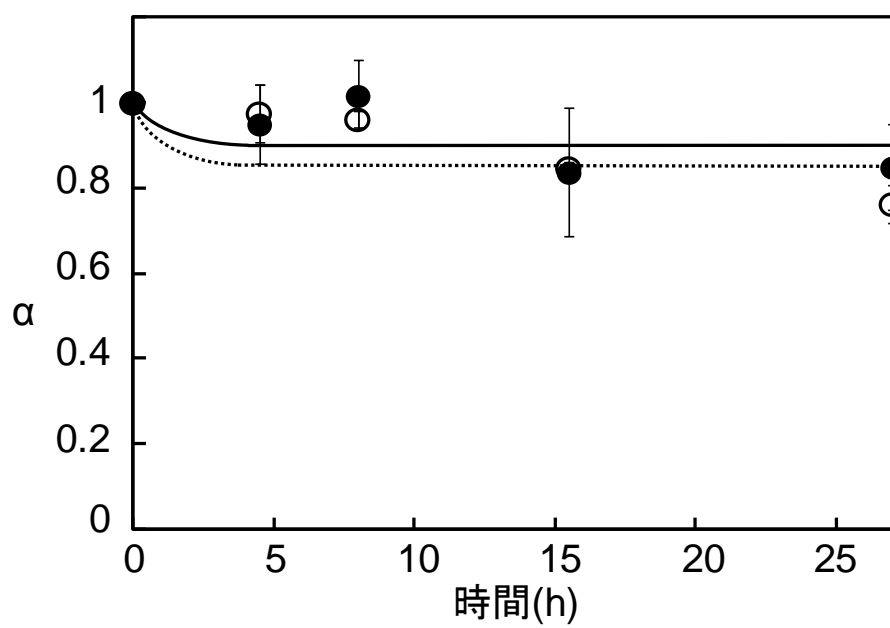


(b)

Figure 2.4 防菌・防カビ剤の光分解試験における変化率 $\alpha$ の時間変化, (a) triclosan (◇: 太陽光照射, ◆: 暗条件), (b) triclocarban (□: 太陽光照射, ■: 暗条件), (c) *p*-thymol (△: 太陽光照射, ▲: 暗条件), (d) phenoxyethanol (○: 太陽光照射, ●: 暗条件)



(c)



(d)

Figure 2.4 (続き)

Figure 2.4 に示すように、triclosan のみ光分解が観測された。triclocarban, *p*-thymol の分解率は 10%以内にとどまっており、顕著な光分解は観察されなかった。triclosan は 15 時間までに 90%以上分解し、反応速度定数は 0.55 (1/h)、半減期は 1.3 時間であった(Table 2.2)。また、phenoxyethanol は blank も太陽光照射試料も約 23%とほぼ同程度分解しており、太陽光による分解はしていないと考えられる。

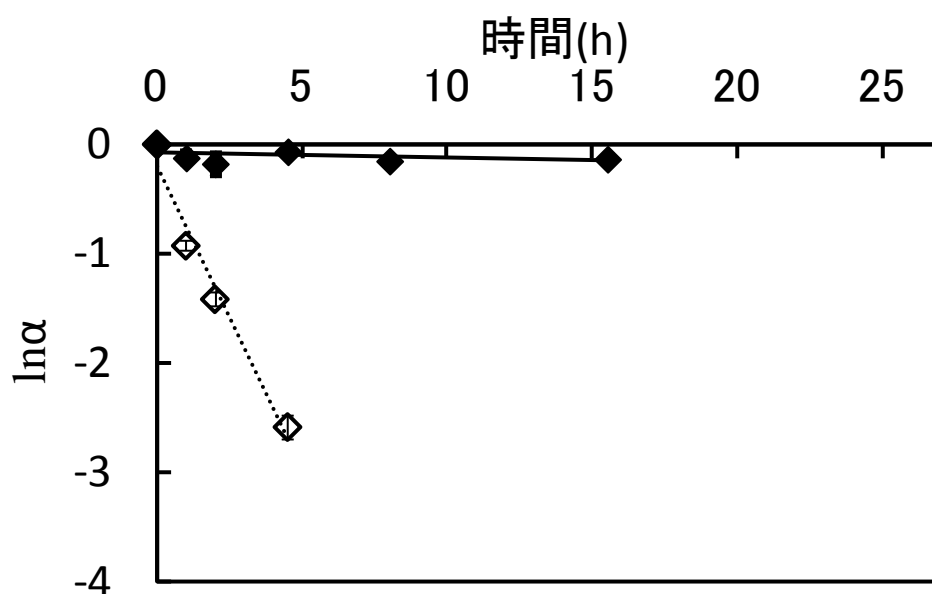


Figure 2.5 防菌・防カビ剤の光分解試験における変化率の対数の時間変化, triclosan (◇:太陽光照射,  $y = -0.55x - 0.20$ ,  $R^2 = 0.97$ , ◆ 暗条件)

Table 2.2 防菌・防カビ剤の光分解試験の分解率，反応速度定数および半減期

物質名	実験終了時（27 時間後）の分解率 (%)	一次反応速度定数 $k_p$ (1/h)	半減期 $t_{p1/2}$ (h)	文献
triclosan	<b>97±0.1</b>	<b>5.5±0.1×10<sup>-1</sup></b>	<b>1.3</b>	本研究
		7.1×10 <sup>-1</sup>	0.98	田村ら <sup>24)</sup>
		0.013~0.75		Lindstrom ら <sup>27)</sup>
triclocarban	<b>12±11</b>	<b>0</b>		本研究
<i>p</i> -thymol	<b>15±0.3</b>	<b>0</b>		本研究
phenoxyethanol	<b>23±4</b>	<b>0</b>		本研究

光分解試験についても，生分解試験と同様に，以前の報告<sup>24)</sup>で 3 月に実施した triclosan の反応速度定数 0.71 (1/h) と比較すると本研究でも 0.55 (1/h) とほぼ同程度であった。Lindström らがスイスのグライフェン湖で採取した湖水を使用し，北緯 47 度において 9 月に石英試験管中で 1 時間の太陽光分解試験を実施した報告では，反応速度定数が pH 8.0 では 0.75 (1/h) と本研究とほぼ一致<sup>27)</sup>していた。彼らは蒸留水でもほぼ同様の結果を得ており，triclosan の光分解に溶存有機物などの河川水中の物質の影響は小さいと指摘している。

## 2.3 底質への収着試験

### 2.3.1 理論

河川底質への収着試験については、予備試験を実施した結果、本研究で選定した物質については、水相中の防菌・防カビ剤の濃度が底質自体の濃度に比べて十分に低いことから、既報<sup>22)</sup>と同様に水相中濃度と固相中濃度との関係は線形の Henry 型であることを確認している。底質を添加しない blank の防菌・防カビ剤濃度を初期濃度とし、以下の式で収着係数  $K_D$ (L/kg)を算出した。

$$C_s=(C_0-C_w)/S \quad (2.5)$$

$$K_D=C_s/C_w \quad (2.6)$$

ここで、 $C_s$ は底質中濃度(mg/kg)、 $S$ は底質重量(kg)、 $C_0$ は初期水相中濃度(mg/L)、 $C_w$ は24時間後の水相中濃度(mg/L)を表す。また、有機炭素あたりの収着係数  $K_{oc}$ (L/kg C)については以下の式を用いて算出した。

$$K_{oc}=K_D/(\text{有機炭素量}) \times 100 \quad (2.7)$$

### 2.3.2 試験方法

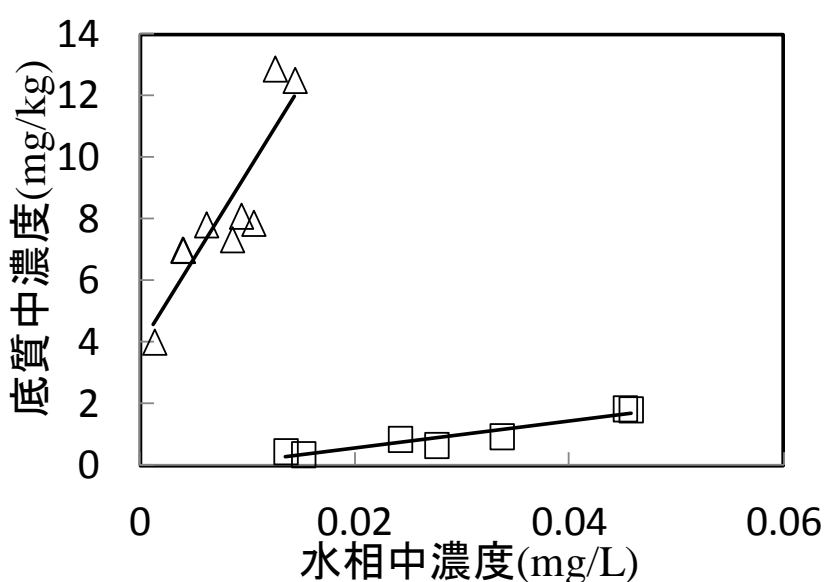
徳島市内の河川の底質を2種類採取し、それぞれ空気乾燥して2.0 mmのふるいにかけて使用した。採取地点はFigure 1.1に示す徳島市西部の都市河川である田宮川の蔵本公園・西消防署付近と徳島市郊外の比較的清浄な鮎喰川の梁瀬橋付近である。その性状はAppendix EのTable E.1に示す。田宮川底質は比較的粒径が細かく有機物の含有量が多かったが、鮎喰川底質は比較的粒径が粗く有機物の含有が田宮川底質の10分の1程度であった。

試験はOECDテストガイドライン No.106<sup>38)</sup>に基づき、医薬品類について当研究グループで実施・報告した方法<sup>22)</sup>で実施した。まず予備試験として、防菌・防カビ剤が初期添加濃度(0.10 mg/L)の約50%収着する河川底質量を検討した。共栓付き褐色ガラス遠沈管(容量約13 mL)に5段階の異なる質量の河川底質を加えた。そこにリン酸緩衝液(0.02 M)を混合してpH 7とし、好気性微生物による分解を防ぐためにアジ化ナトリウム(0.02 M)を加えた0.10 mg/Lの防菌・防カビ剤溶液を入れた。25 °Cに設定したインキュベータ内で15 rpmにて1時間回転攪拌後に、2,500 rpmで5分遠心分離し固液分離した。最後に水相の上澄みを0.7 µmのガラス繊維濾紙で濾過し、水相中濃度を測定した。本試験は遠沈管にtriclosan, triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanolについて、田宮川底質は25, 33, 2,700, 6,000 mgを鮎喰川底質は86, 100, 10,000, 10,000 mgをそれぞれ入れ、対象物質の濃度を5段階に設定した。各2連ずつ(合計n=10)

で用意し、すべての濃度区について底質を加えない blank を用意した。25 °C に設定したインキュベータに入れ、暗条件で 24 時間回転攪拌後、水相中濃度を測定した。

### 2.3.3 結果と考察

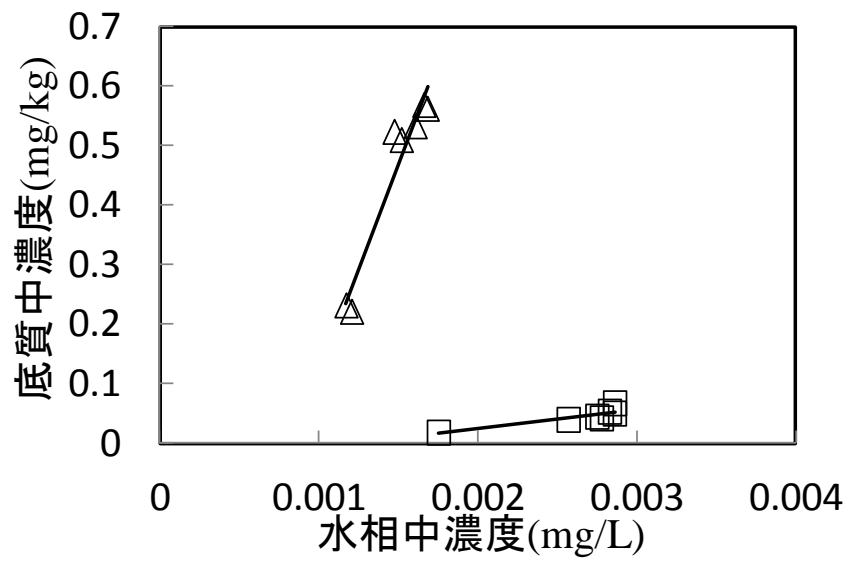
4 種の防菌・防カビ剤の 2 種の河川底質に対する収着試験の結果を Figure 2.5 に、収着係数( $K_D$ )および有機炭素量あたりの収着係数( $K_{oc}$ )を Table 2.3 に示す。



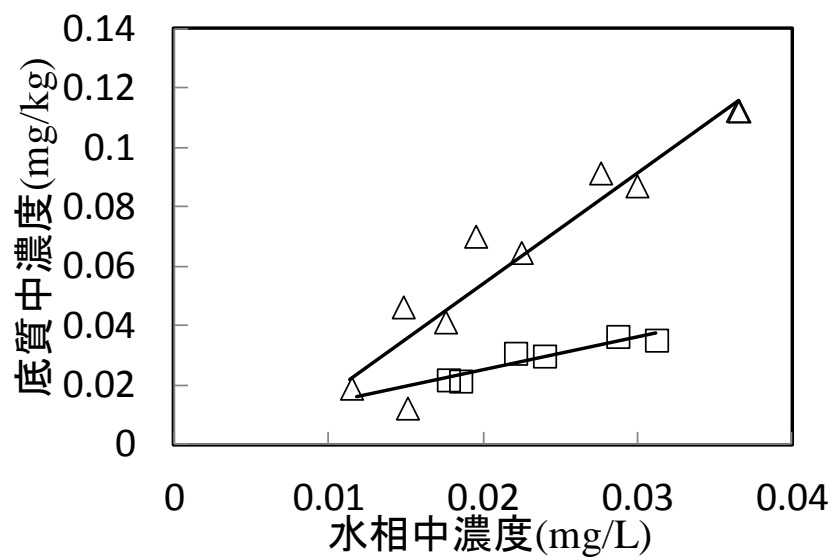
(a)

Figure 2.5 防菌・防カビ剤の河川底質への収着等温線, (a)triclosan, 田宮川底質:  $y = 570x + 3.8$ ,  $R^2 = 0.79$  ( $n=9$ ); 鮎喰川底質:  $y = 45x - 0.32$ ,  $R^2 = 0.91$  ( $n=7$ ); (b)triclocarban, 田宮川底質:  $y = 710x - 0.60$ ,  $R^2 = 0.93$  ( $n=7$ ); 鮎喰川底質:  $y = 33x - 0.041$ ,  $R^2 = 0.76$  ( $n=7$ ); (c)*p*-thymol, 田宮川底質:  $y = 3.8x - 0.021$ ,  $R^2 = 0.90$  ( $n=9$ ); 鮎喰川底質:  $y = 1.1x - 0.003$ ,  $R^2=0.88$  ( $n=7$ ); (d)phenoxyethanol, 田宮川底質:  $y = 0.36x + 0.013$ ,  $R^2 = 0.93$  ( $n=7$ ); 鮎喰川底質:  $y = 0.11x - 0.0044$ ,  $R^2 = 0.84$  ( $n=7$ ); (□: 鮎喰川底質, △: 田宮川底質)



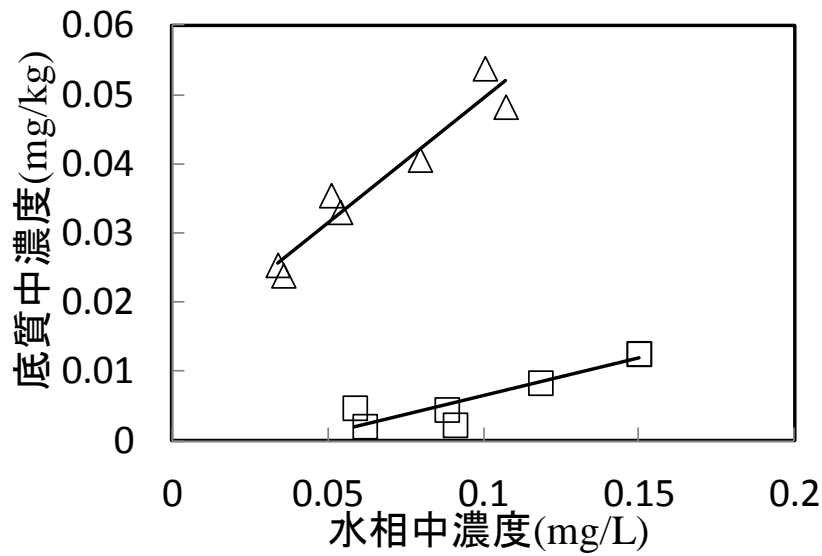


(b)



(c)

Figure 2.5 (続き)



(d)

Figure 2.5 (続き)

本研究で対象とした4種の防菌・防カビ剤の中では、triclocarbanの収着係数が最も高く、続いて triclosan, *p*-thymol, phenoxyethanolの順であった。また、triclosan, triclocarbanの収着係数は同程度で、*p*-thymol, phenoxyethanolと比較すると30~2,000倍高かった。なお、鮎喰川底質と田宮川底質を比較すると、全ての対象物質について有機炭素含有量(OC)の高い田宮川底質の方が収着係数が高かった。



および物質特有の  $\log K_{oc}$  を実測することが望ましい。いずれにせよ, triclosan, triclocarban は底質に収着して残留しやすいことで底質中に生息する生物に悪影響を与える可能性があるため, 第4章で検討した。

Table 2.4 防菌・防カビ剤の有機炭素あたりの収着係数の環境中動態予測ソフト  
EPI Suite による予測値と他の研究者による報告値の比較

物質名	log K <sub>oc</sub>	文献
triclosan	<b>4.8</b>	本研究
	4.4	EPI Suite 予測値
	4.6	Wick ら <sup>30)</sup>
triclocarban	<b>4.8~4.9</b>	本研究
	3.6	EPI Suite 予測値
	5.1	Wick ら <sup>30)</sup>
<i>p</i> -thymol	<b>2.6</b>	本研究
	3.2	EPI Suite 予測値
phenoxyethanol	<b>1.6~2.1</b>	本研究
	1.2	EPI Suite 予測値

次に、有機物炭素量あたりの収着係数 K<sub>oc</sub>とオクタノール・水分配係数 K<sub>ow</sub>との関係を Figure 2.6 に示す。Karickhoff ら<sup>31)</sup>は PAHs や PCB 等の疎水性物質の底質への収着実験の結果をもとに、

$$\log K_{oc} = \log K_{ow} - 0.21 \quad (2.8)$$

のように log K<sub>ow</sub>と log K<sub>oc</sub>の間には傾きが 1 の正の相関があることを報告している。

K<sub>oc</sub>と K<sub>ow</sub>の関係がこの線上に近い疎水性物質については、収着の主要メカニズムは

底質の有機物画分への疎水性相互作用であるという考え方が長年受け入れられてきた。

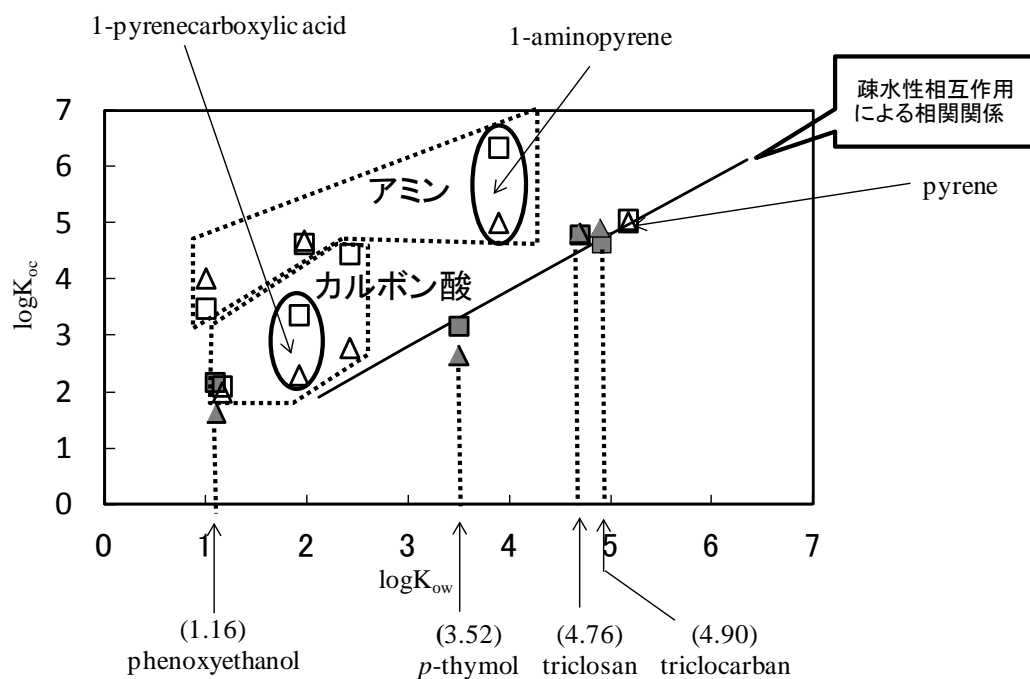


Figure 2.6 有機物炭素量あたりの各防菌・防カビ剤（および既報<sup>22)</sup>）における医薬品のうちアミン類，カルボン酸）の収着係数  $K_{oc}$  の対数値とオクタノール・水分配係数  $K_{ow}$  の対数値との関係のプロット，（□：鮎喰川底質，△：田宮川底質，破線：Karickhoff ら<sup>31)</sup>によって導出された近似線： $\log K_{oc} = \log K_{ow} - 0.21$ ）

我々の研究グループの既報<sup>22)</sup>で医薬品 8 種についてこのプロットを適用した場合，

Figure 2.6 に示すようにほとんどの物質は直線よりも上側に位置し，特にアミン類（中性域で正に帯電）は負に帯電していると考えられる底質 (Table E.1) との間に電気化学的な親和性で結合もしくは水素結合するなど，疎水性相互作用以外の収着メカニズム

の重要性が示された。本研究で選定した4物質については、アミンとは異なり、中性域ではわずかに負に帯電している triclosan と、ほとんど帯電していない triclocarban, *p*-thymol の3物質がほぼ直線上に位置し、底質の有機物画分への疎水性相互作用が主な収着要因であると推定される。一方、疎水性が低く水酸基を有する phenoxyethanol については、底質の有機物画分だけでなく、粘土質等との間に水素結合等が作用して、Figure 2.6 に示すように既報<sup>21)</sup>のカルボン酸と同様に予測値よりも高い収着係数になったものと考えられる。

## 第3章 試験用水生生物を用いた毒性試験

### 3.1 急性毒性試験

#### 3.1.1 実験方法

##### 3.1.1.1 ムレミカツキモ生長阻害試験

藻類生長阻害試験は、国立環境研究所から分譲された NIES-35 系統の単細胞緑藻の ムレミカツキモ (*Pseudokirchneriella subcapitata*)を徳島大学総合科学部内で 3 カ月以上継代飼育したものをを用い、2006 年に改正後の経済協力開発機構(OECD)の化学品テストガイドライン 201<sup>32)</sup>に従い試験を実施した。容器はあらかじめ蒸気滅菌した 100 mL の三角フラスコを使用し、連数はブランク(陰性対照区)を 6 連、その他の各濃度区 3 連用意した。各濃度区の公比は 2 とし、OECD 培地(組成を Appendix F の Table F.1 に記載)を使用して液量は 40 mL とした。試験操作はクリーンベンチ内において滅菌操作で行い、試験液はメンブレンフィルター(ミニザルト RC, ザルトリウス社製, 孔径 0.45  $\mu\text{m}$ )でろ過滅菌し、三角フラスコはシリコセンで蓋をした。あらかじめ OECD 培地内で対数増殖期まで培養したムレミカツキモを植種し、初期細胞濃度を 5,000 cells/mL とした。培養は照明付きインキュベータ内で行い、試験温度は  $23\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、連続照射(光度は 5,000 lux)した。培養中は 100 rpm で往復振とうし、24, 48, 72 時間後に吸光度を測定し、顕微鏡下で計数したムレミカツキモの細胞数に換算した。試験物質の濃度は 0 および 72 時間後に後述の 3.1.1.4 に示す方法を用いて蛍光・吸光検出器付



き HPLC で測定した。

統計解析は大分大学の吉岡義正先生によって開発され，日本環境毒性学会によって公開されている Ecotox-Statics ver.2.6d.<sup>33)</sup>を使用した。各濃度区およびブランクについて横軸に時間，縦軸に細胞濃度として，生長速度  $\mu$  を以下の式で算出した。

$$\mu = (\ln N_n - \ln N_1) / (t_n - t_1) \times 100 \quad (3.1)$$

ここで  $N_1$ ：時間  $t_1$  での実測細胞濃度(cells/mL)， $N_n$ ：時間  $t_n$  での実測細胞濃度(cells/mL)， $t_1$ ：曝露開始後最初に細胞濃度を測定した時間  $t_n$ ：曝露開始後  $n$  回目に細胞濃度を測定した時間を指す。

各濃度区の生長速度  $\mu_i$  をブランクの生長速度  $\mu_0$  と比較することで，以下の式から生長阻害率を算出した。

$$(\text{生長阻害率}) = (\mu_i - \mu_0) / \mu_0 \times 100 \quad (3.2)$$

ここで，横軸を濃度の対数，縦軸を各濃度区の生長阻害率としてプロビット変換もしくはロジット変換することにより，生長曲線を得ることで 72 時間後の速度法による半数生長阻害濃度(Effect Concentration 50：EC<sub>50</sub>)である 72 h-EC<sub>50</sub> を算出した。

### 3.1.1.2 オオミジンコ遊泳阻害試験

甲殻類の急性試験は，国内外で最も広く用いられているオオミジンコ(*Daphnia magna*)の遊泳阻害試験を採用した。国立環境研究所から分譲されたオオミジンコを Elendt M4 培地(組成は Appendix F の Table F.2 に記載)内で徳島大学総合科学部において 3 カ月以上飼育して馴化したものを用いた。なお，給餌は 1 日 1 回，洗浄済みクロレラ(エコジェノミクス社製，福岡県久留米市)を適量与えた。試験は経済協力開発機構(OECD)の化学品テストガイドライン 202<sup>34)</sup>に従い実施した。容器は 50 mL のビーカーを使用し，公比は 1.4~2 として，生後 24 時間以内のオオミジンコを各濃度区について 5 匹×4 連，すなわち濃度区あたり合計 20 匹を使用して試験を実施した。なお，各物質の試験溶液は M4 培地で希釈し，各ビーカーに 50 mL ずつ入れた。試験温度は 20±1℃，明暗周期は 16 時間明（照明は 500 lux 程度），8 時間暗に設定し，給餌は行わなかった。24 時間後および 48 時間後に観察を行い，容器を振動して 15 秒間移動しない個体は遊泳阻害を受けたとした。試験物質の濃度を 0 および 48 時間後に後述の 3.1.1.4 に示す方法を用いて HPLC で測定し，その濃度の幾何平均を曝露濃度とした。統計解析は上記の Ecotox-Statics ver.2.6d.<sup>33)</sup>を使用し，各濃度における遊泳阻害率

$$(\text{遊泳阻害率}) = (\text{各濃度区での遊泳阻害した個体数}) / (\text{各濃度区の全個体数}) \times 100$$

(3.3)

をプロビット変換(もしくはロジット変換)して、48 時間での半数影響濃度(48 h-EC<sub>50</sub>)を算出した。

### 3.1.1.3 ヒメダカ急性毒性試験

国立環境研究所から分譲されたヒメダカ(*Oryzias latipes*)を徳島大学総合科学部 3 号館の環境化学実験室内で作成した飼育水で馴化し、継代飼育したものを使用した。なお、給餌は、ブラインシュリンプ(*Artemia salina*)の耐久卵(太平洋貿易, 米国ソルトレーク産)を、2%の食塩水内で 24 時間曝気して孵化させた後、飼育水で洗浄して 1 日 2 回飽食量与えた。飼育水は、徳島大学総合科学部総合科学部 3 号館の水道水にアクリル製カラム(内径 3 cm, 長さ 30 cm)に粒状活性炭(カルゴン社製ダイアゾーブ)を充填したカラムを 2 つ直列に配置し、1 μm ハウジングフィルターでろ過後、紫外線殺菌した脱塩素水を使用した。急性毒性試験は経済協力開発機構(OECD)化学品テストガイドライン 203<sup>35)</sup>に従い実施した。容器は 100 mL のビーカーを使用した。生後 10 日間飼育したヒメダカを 5 匹×2 連、すなわち 1 濃度区 10 匹使用して試験を実施した。試験温度は 25±1℃, 明暗周期は 16 時間明, 8 時間暗に設定した。48 時間毎に換水し、換水前後の試験物質の濃度を後述の 3.1.1.4 に示す方法を用いて HPLC で測定し、その幾何平均を曝露濃度とした。統計解析は上記の Ecotox-Statics ver.2.6d.<sup>33)</sup>を使用し、各濃度における致死率をプロビット変換(もしくはロジット変換)し、96 時間

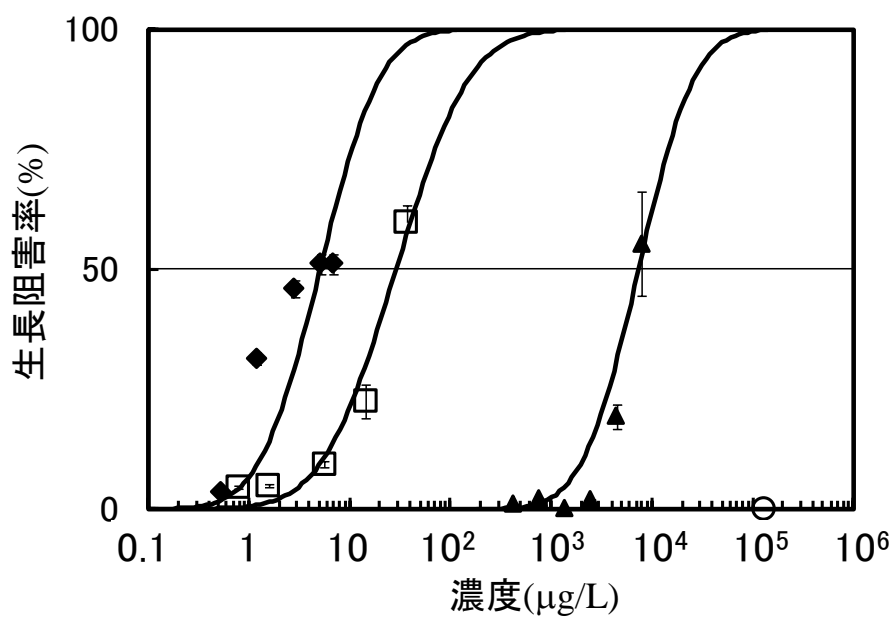
での半数致死濃度(Lethal Concentration 50), つまり 96 h-LC<sub>50</sub>を算出した。

#### **3.1.1.4 毒性試験における試験物質の濃度測定**

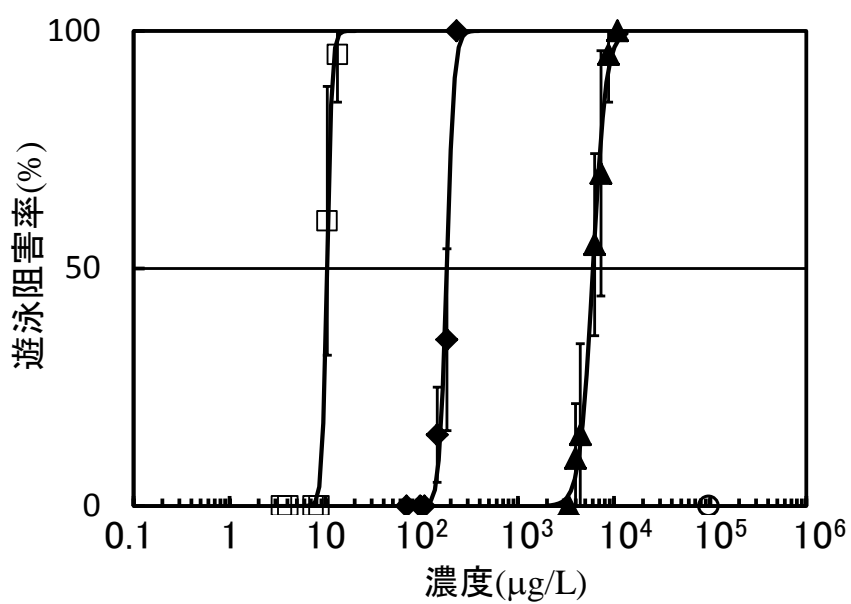
第2章と同様に蛍光・吸光検出器付き HPLC(島津製作所製 VP-10AD シリーズ)で濃度を外部標準法により定量した。毒性試験についても試験水を直接バイアルに採取し濃度を測定した。試験の前後および換水の前後で濃度を測定し幾何平均を試験濃度とした。なお、濃度測定についての精度や正確度についてはミジンコ飼育水において標準添加法で測定した結果を含め、Appendix C に記載している。

#### **3.1.2 結果と考察**

急性毒性試験の結果として、シグモイド曲線を Figure 3.1 に、結果を EC<sub>50</sub> など表にまとめたものを Table 3.1 に示す。なお、同様の実験を過去に実施した際の結果を Appendix G に示す。

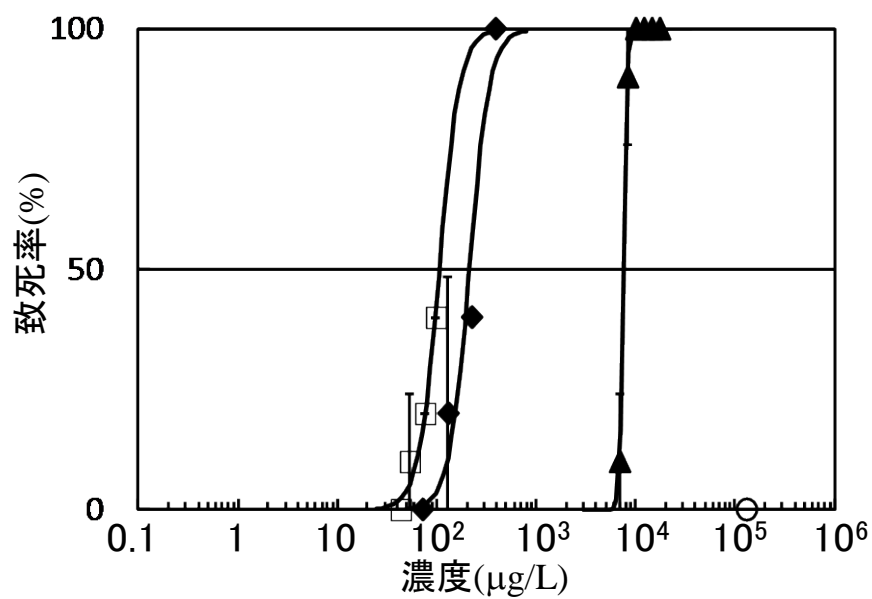


(a)



(b)

Figure 3.1 急性毒性試験結果のプロットとシグモイド曲線, (a)ムレミカヅキモ, (b)オオミジンコ, (c)ヒメダカ (◆: triclosan, □: triclocarban, ▲: *p*-thymol, ○: phenoxyethanol, 曲線: プロビットもしくはロジット変換した曲線, エラーバー: 標準偏差)



(c)

Figure 3.1 (続き)

ムレミカヅキモに対する毒性値は、本研究の対象4種の防菌・防カビ剤の中では、triclosan の  $EC_{50}$  が  $5.1 \mu\text{g/L}$  と最も強く、次いで triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanol という順であった。phenoxyethanol は3種の生物全てに対する毒性が弱く  $96,000 \mu\text{g/L}$  以上であった。*p*-thymol の毒性は triclosan や triclocarban よりは弱い、phenoxyethanol よりはやや強いレベルであることがわかった。

Table 3.1 対象とした防菌・防カビ剤の水生生物 3 種に対する急性毒性試験の解析結果

	供試生物	ムレミカヅキモ ( <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> )	オオミジンコ ( <i>Daphnia magna</i> )	ヒメダカ ( <i>Oryzias latipes</i> )
	エンド ポイント	72 h-EC <sub>50</sub> (μg/L)	48 h-EC <sub>50</sub> (μg/L)	96 h-LC <sub>50</sub> (μg/L)
防菌・防カビ剤				
triclosan		5.1 (3.8-8.4)	180 (150-230)	210 (130-340)
triclocarban		29 (25-35)	10 (7.1-12)	85 (45-100)
<i>p</i> -thymol		7,400 (6,800-8,300)	5,700 (3,000-7100)	7,600 (6,600-8,700)
phenoxyethanol		130,000<	96,000<	123,000<

()内は 95% 信頼区間

本研究で対象とした防菌・防カビ剤の水生生物に対する文献値を急性毒性値は Appendix H の Table H.1 に示す。*p*-thymol については比較できる結果はこれまで報告されておらず、新たな知見といえる。*phenoxyethanol* は小型魚のファットヘッドミノー(*Pimephales promelas*)を用いた急性毒性値のみが報告されているが、非常に高い濃度であり、本研究の結果と一致している。

## 3.2 慢性毒性試験

### 3.2.1 実験方法

#### 3.2.1.1 ムレミカツキモ生長阻害試験

ムレミカツキモに代表される単細胞緑藻は生長速度が速く、増殖に関わるエンドポイントを用いているため、環境毒性学の分野ではその最大無影響濃度(No Observed Effect Concentration: NOEC)を慢性試験結果とみなすことが一般的である。そのため、上記の 3.1.1.1 に示す急性毒性試験から得られた結果を Ecotox-Statics ver.2.6d.<sup>33)</sup>で再解析し、等分散性検定(Bartlett 検定)、正規性検定(Shapiro-Wilk 法など)の後に多重比較検定(Dunnett 検定)を実施し、有意水準 5%で有意差が検出される最小無影響濃度(Lowest Observed Effect Concentration: LOEC)より 1 濃度区下の濃度区を 72 時間の最大無影響濃度である 72 h-NOEC とし、ムレミカツキモの慢性毒性値として用いた。

#### 3.2.1.2 ニセネコゼミジンコ繁殖毒性試験

甲殻類を用いた慢性試験は国立環境研究所から分譲されたニセネコゼミジンコ(*Ceriodaphnia dubia*)を徳島大学総合科学部 3 号館の環境化学実験室内で継代飼育したものを使用して、繁殖試験を実施した。このニセネコゼミジンコは、オオミジンコよりもライフサイクルが短く、繁殖毒性試験(経済協力開発機構化学品ガイドライン 211<sup>36)</sup>に相当)が 21 日間ではなく 8 日間という短期間で実施可能であるという利点が



あり、微小であるために取扱いは煩雑だがその感受性もほぼ同様であることが確かめられている。給餌は、3.1.1.2 に示したオオミジンコと同様の洗浄済クロレラのほかに、YCT (Yeast Cerophyll Trout Chow, エコジェノミクス社から購入)を1日1回、適量与えた。飼育水は、上記3.1.1.3 のメダカの飼育水に、米国環境保護庁のガイドライン<sup>37)</sup>に記載されている硬度調整水(50 mg CaCO<sub>3</sub>/L, Table F.3)を添加することで作製した。

この試験は、北米や欧州で広く用いられている方法（国内では排水の評価・管理への利用を検討中<sup>38)</sup>）で、上記の急性試験で用いたオオミジンコに比べて短期間で慢性試験ができるという特徴があり、米国では排水・環境水の管理に広く用いられている。

本研究では、カナダ環境省で推奨された方法<sup>39)</sup>に従い、容量 50 mL のガラス容器に生後 24 時間以内のニセネコゼミジンコを各 1 匹ずつ入れ、公比 2 として各濃度区 10 連で、25±1℃ に設定したインキュベータ内で試験を実施した。明暗周期は 16 時間明、8 時間暗に設定した。48 時間毎に換水し、換水前後の試験物質の濃度を HPLC で測定し、その幾何平均を曝露濃度とした。試験期間は 8±1 日とし、3 腹目までの累計産仔数と親ミジンコの致死を計測した。産仔数について一元配置分散分析(ANOVA)をした後、正規分布で等分散性を仮定した多重比較検定である Dunnett 検定を行い、コントロールと比較して産仔数に有意な影響が認められない最大無影響濃度(NOEC)を算出した。

### 3.2.1.3 ゼブラフィッシュ胚・仔魚期短期毒性試験

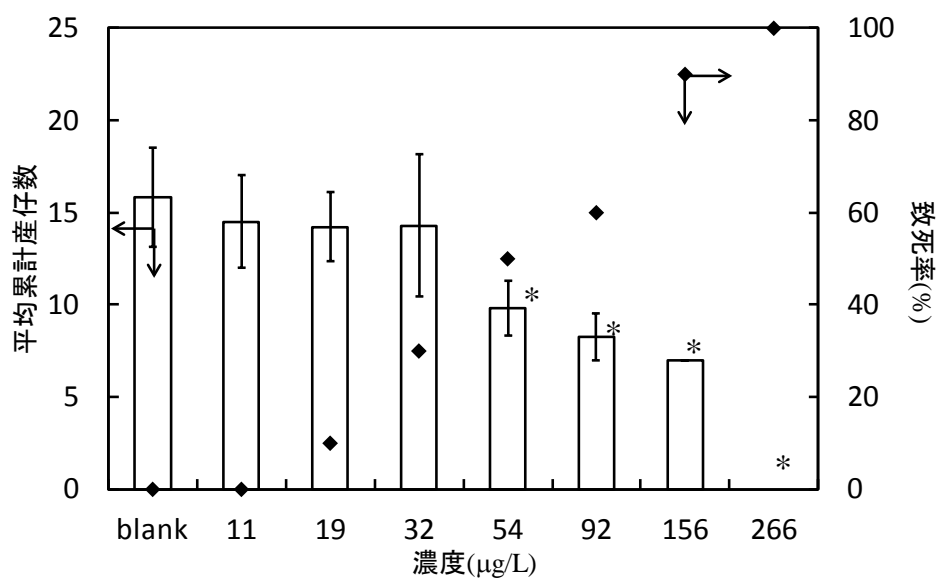
魚類の慢性試験としては、上記 3.1.1.3 の急性試験を 14 日間まで延長する延長毒性試験(経済協力開発機構化学品ガイドライン 204<sup>40)</sup>)のほか、初期発達段階試験(同ガイドライン 210<sup>41)</sup>)、繁殖毒性試験(同ガイドライン 229<sup>42)</sup>および 230<sup>43)</sup>)など比較的長期間の試験が提案されている。その中で、胚期と仔魚期という感受性の高い期間にわたって曝露を行い、その影響を調べる経済協力開発機構テストガイドライン 212<sup>44)</sup>は 9 日という短期の試験であるが、その利用価値は非常に高い。そこで、このガイドライン 212 に従って実験を行うこととした。供試生物としては、以前は急性毒性試験と同様にヒメダカを使用していた。しかし、採卵のしやすさや孵化日数(ヒメダカ約 10 日、ゼブラフィッシュ約 3 日)を考えると、欧州での使用実績が多いインド原産のゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)の優位性が高く、国内でも排水・環境水の評価・管理への利用が検討されている。本研究では、国立環境研究所から分譲されたゼブラフィッシュを徳島大学総合科学部 3 号館の環境化学実験室内で 3 カ月以上の間、ヒメダカと同様の上記 3.1.1.3 の方法で作成した飼育水で馴化し、継代飼育したものをを用いて試験を実施した。なお、給餌はヒメダカと同様にブラインシュリンプを孵化させ飼育水で洗浄したものを、1 日 3 回飽食量与えた。

試験用の容器は容量 90 mL のガラス容器を使用して、公比を 2 として上記飼育水を用いて試験物質を希釈した。オスとメスを分けて飼育したゼブラフィッシュを、試験

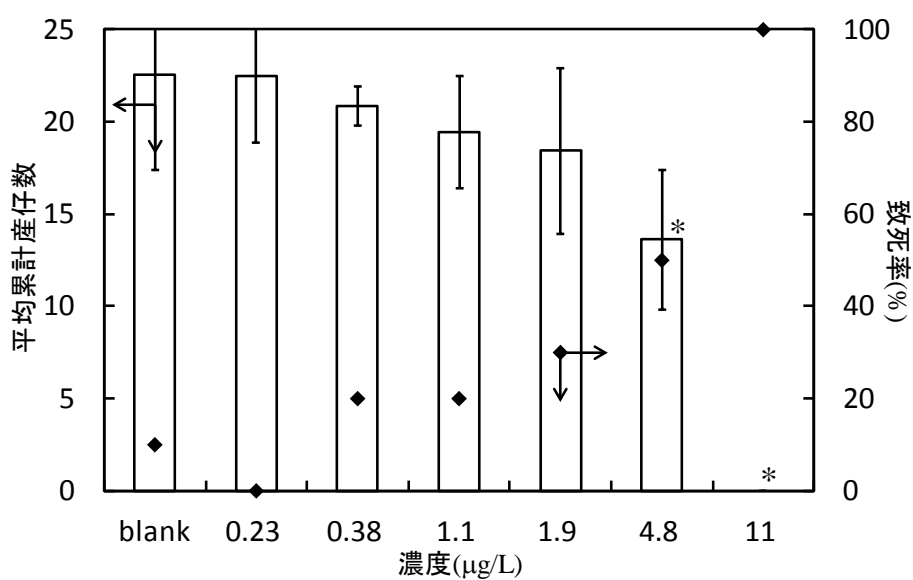
日の朝にペアリングすることで採卵し，実体顕微鏡下で受精卵を選別して各容器 15 匹入れ，各濃度区 3 連で試験を実施した。温度は  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ，明暗周期は 16 時間明，8 時間暗に設定した。48 時間毎に換水し，換水前後の試験物質濃度を上記 3.1.1.4 に示す方法を用いて HPLC で測定し，その幾何平均を曝露濃度とした。試験期間は 9 日間とし曝露 5 日後までに孵化した割合を孵化率として算出し，孵化した仔魚のうち 9 日後に生存している仔魚の割合から死亡率を算出した。多重比較検定である Dunnett 検定を行い，コントロールと比較して有意な影響が認められない最大無影響濃度 (NOEC) を算出した。

### 3.2.2 結果と考察

ニセネコゼミジンコおよびゼブラフィッシュの慢性毒性試験の各濃度区での致死率などをそれぞれ Figure 3.2 および 3.3 に示す。また，ムレミカヅキモも含めた水生生物 3 種の最大無影響濃度 (NOEC) を Table 3.2 に示す。

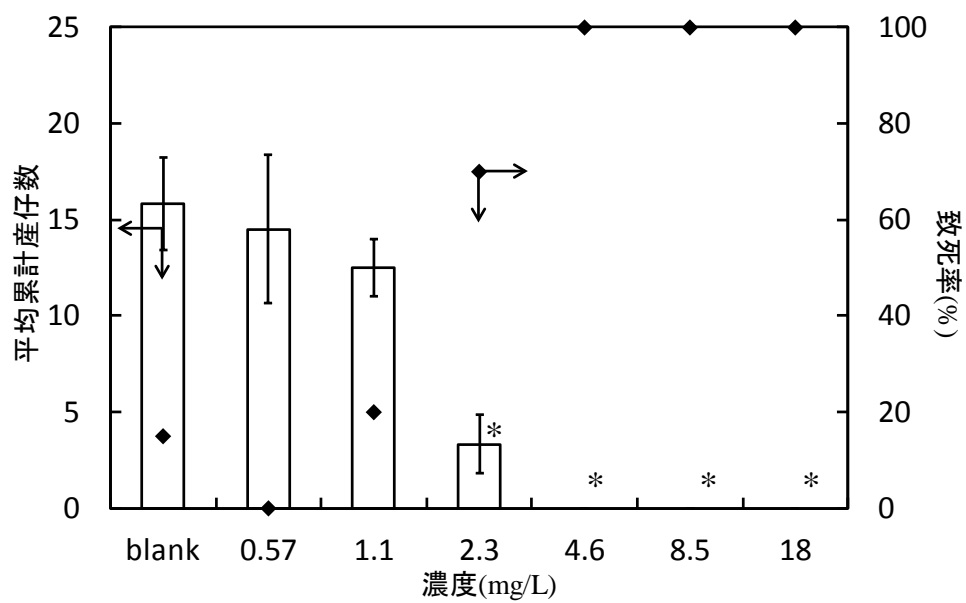


(a)

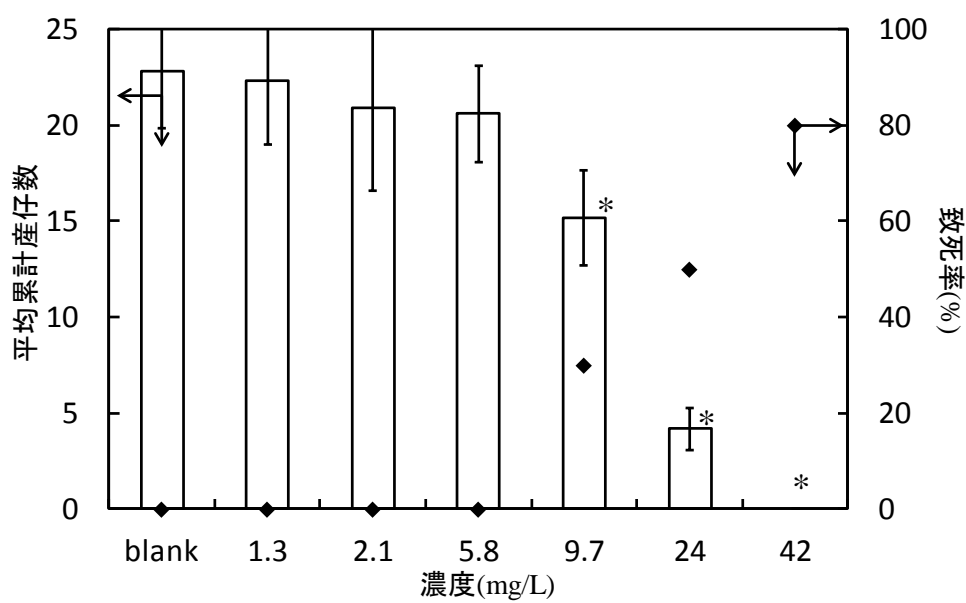


(b)

Figure 3.2 ニセネコゼミジンコ繁殖毒性試験結果, (a)triclosan, (b)triclocarban, (c)*p*-thymol, (d)phenoxyethanol (棒グラフ: 左側の目盛りで平均累計産仔数, エラーバー: 標準偏差, ◆: 右側の目盛りで致死率, \*:  $p < 0.05$ )

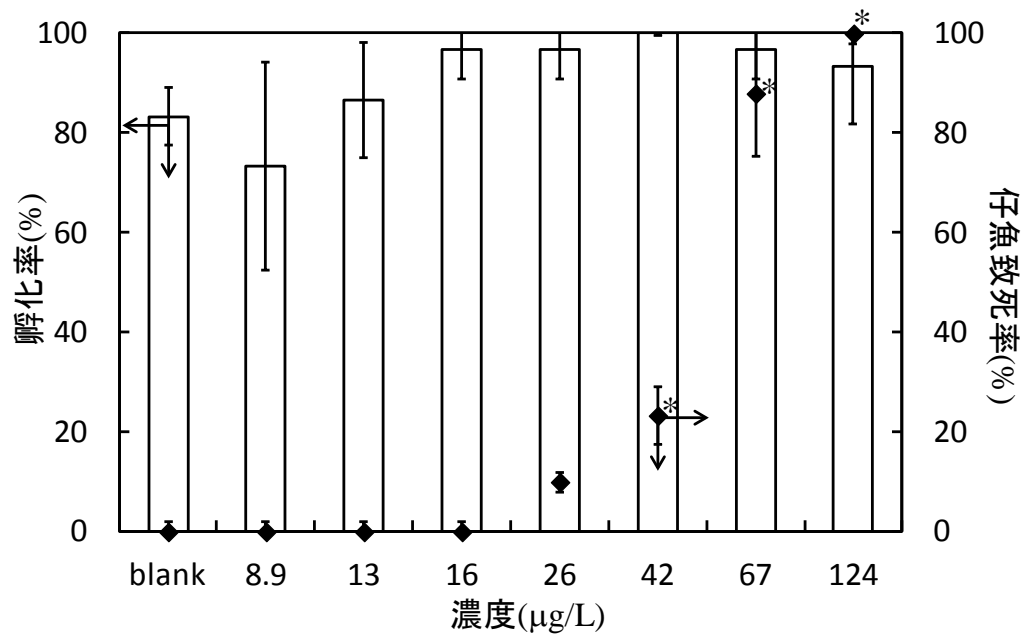


(c)

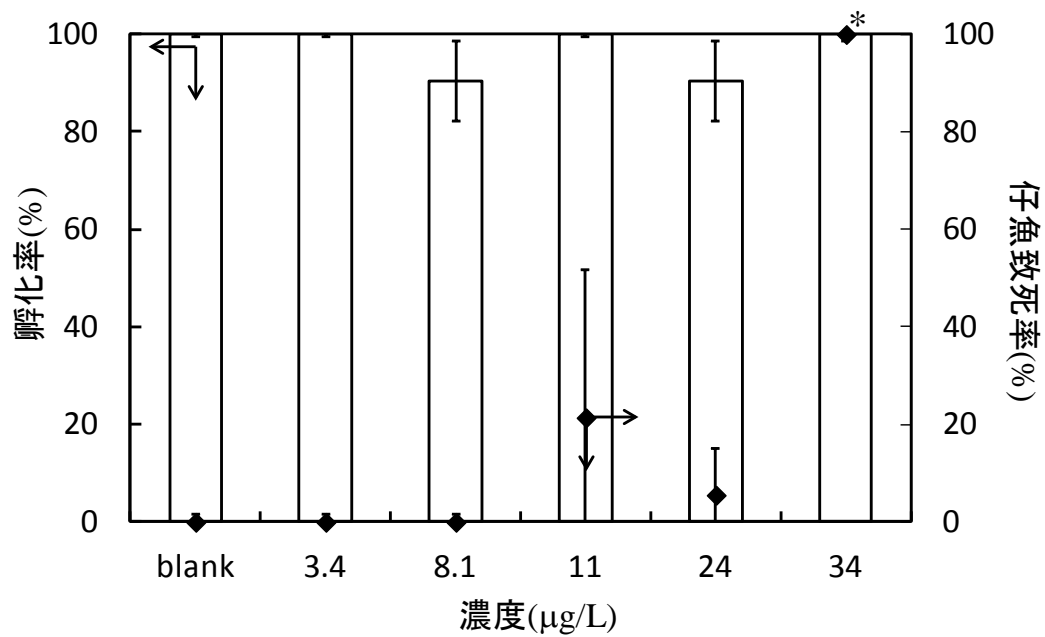


(d)

Figure 3.2 (続き)

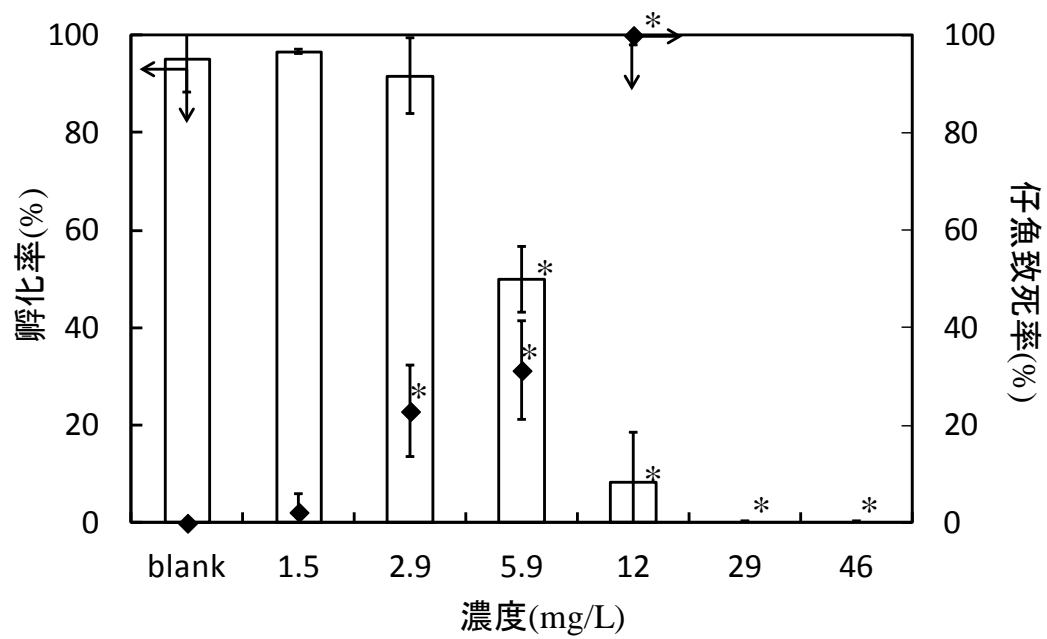


(a)



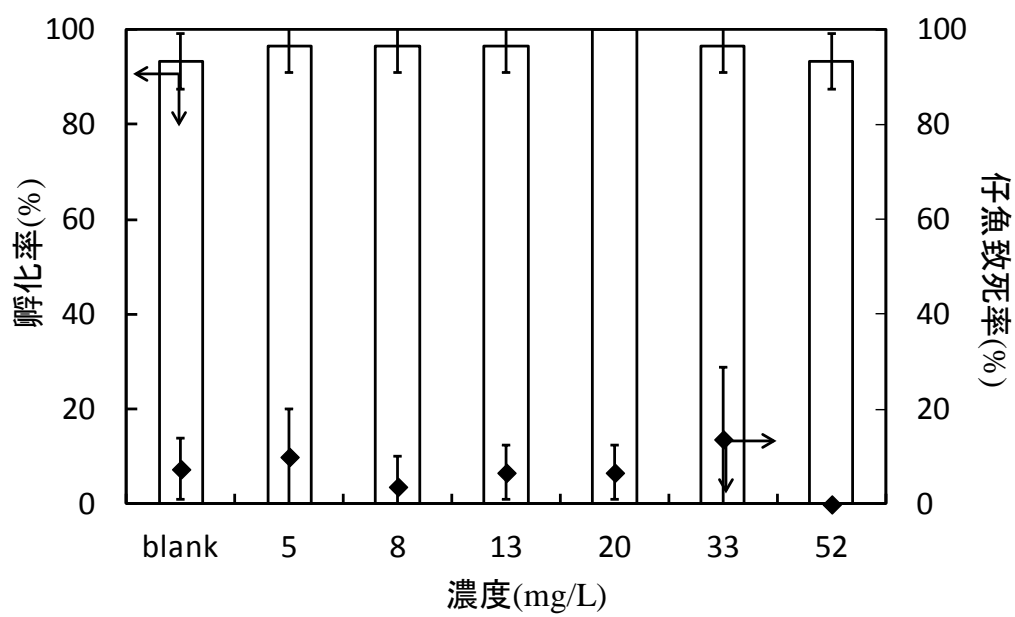
(b)

Figure 3.3 ゼブラフィッシュ胚・仔魚期短期毒性試験結果, (a)triclosan, (b)triclocarban, (c)*p*-thymol, (d) phenoxyethanol (棒グラフ: 孵化率, ◆: 仔魚致死率, \*は  $p < 0.05$ )



(c)

Figure 3.3 (続き)



(d)

Figure 3.3 (続き)

Table 3.2 防菌・防カビ剤の水生生物 3 種に対する慢性毒性試験の解析結果  
(最大無影響濃度 NOEC)

防菌・防カビ剤	供試生物	ムレミカツキモ ( <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> )	ニセネコゼ ミジンコ ( <i>Ceriodaphnia dubia</i> )	ゼブラフィッシュ ( <i>Danio rerio</i> )
	エンド ポイント	72 h-NOEC (μg/L)	8 d-NOEC (μg/L)	9 d-NOEC (μg/L)
triclosan		0.53	30	26
triclocarban		5.7	1.9	24
<i>p</i> -thymol		2,500	1,070	1,500
phenoxyethanol		130,000<	5,800	52,000<

急性毒性試験の結果と同様に triclosan および triclocarban の NOEC が 0.53 から 30 μg/L と比較的毒性が強かった。一方, そのほかの防菌・防カビ剤は 1,000 から 130,000< μg/L と 2 オーダー以上毒性値が高いことから, 毒性が比較的弱いことがわかった。triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanol の 3 物質は 3 種の生物種を比較すると, ミジンコへの毒性が最も強かった。phenoxyethanol の毒性影響はムレミカツキモと魚類では検出されなかったが, ニセネコゼミジンコの繁殖試験でのみ毒性影響が確認された (5,800 μg/L)。

本研究で対象とした防菌・防カビ剤の水生生物に対する慢性毒性の文献値を Table H.2 に示し, 比較結果も合わせて Appendix H に示す。*p*-thymol については比較できる



結果は急性試験同様にこれまで報告されておらず、新たな知見といえる。

phenoxyethanol は急性毒性値のみが報告されているが、本研究ではミジンコの慢性影響が比較的低い濃度で報告されており、これも新たな重要な知見といえる。なお、phenoxyethanol のミジンコにおいて急性慢性比が急性毒性値から慢性毒性値を推算する際にアセスメント係数として広く用いられる 10 を超えて( $96,000 \div 5,800 = 13 <$ )おり、慢性毒性は ACR を 10 とした急性毒性からの推定だけでは過小評価される恐れがある。

### 3.3 環境中濃度

詳細なリストを Appendix I の Table I.1 に示す。田宮川や冷田川での検出濃度は、木村ら<sup>45)</sup>によると triclosan が 2~177 ng/L, triclocarban が 23~118 ng/L, *p*-thymol が 1.1~715 ng/L, phenoxyethanol が 0.9~14000 ng/L となっており、triclosan と triclocarban の測定濃度は、中国や米国のかかなり高い地域を除いた場合は、かなり高いレベルにあることがわかる。なお、田宮川と冷田川を比較すると、田宮川の方がやや濃度が高かった。これは、流域人口がやや田宮川の方が多いこと、冷田川では上流部で比較的清澄な園瀬川から取水を行っているために、希釈されていることなどが原因として考えられる。なお、同じような下水道未整備地域も含めて triclosan の濃度を測定した小森ら<sup>7)</sup>の結果の最大値(360 ng/L)と比較した場合、田宮川、冷田川の方がやや低かったものの、過去の報告では冷田川において 300 ng/L で検出<sup>23)</sup>されており、類似した傾向である

と考えられる。

先に示したように、木村らの報告<sup>45)</sup>によると徳島市の田宮川や冷田川のほか、さいたま市の下水道未整備河川などで *phenoxyethanol* は最大 14  $\mu\text{g/L}$  とかなり高濃度で検出されている。また、*p*-thymol や *phenoxyethanol* については、これまでに国内外での報告がなく、特に *phenoxyethanol* の 10  $\mu\text{g/L}$  を超える濃度は医薬品や化粧品に由来する汚染化学物質の濃度測定値として特筆すべき値である。この高い濃度は、パラベン類に代わって広く防腐剤として化粧品やパーソナルケア製品などに用いられていることを示唆している。

### 3.4 生態リスク初期評価

藻類、ミジンコ、魚類それぞれについて環境中濃度を毒性値で除したハザード比を算出した。この値について、化学物質のリスク評価で一般的に用いられ、影響が顕在化する恐れのある 1(ないし 0.1)と比較することで生態リスクを評価した。急性毒性試験結果を用いてリスク評価を行った結果を Figure 3.4 に示す。

今回採用した環境中濃度と急性毒性値( $\text{EC}_{50}$ もしくは  $\text{LC}_{50}$ )から算出したハザード比については、いずれの生物についても 1 を超えた物質はなかった。ムレミカヅキモ、オオミジンコ、ヒメダカイずれの生物でも *triclosan* と *triclocarban* のハザード比がともに高く、ムレミカヅキモ、ミジンコ、ゼブラフィッシュについては最大値が 0.1 を上

回っていた。一方，*p*-thymol および phenoxyethanol のハザード比は最大でも  $10^4$  程度であり，直ちに水生生物に有害影響を及ぼす恐れはないと考えられる。

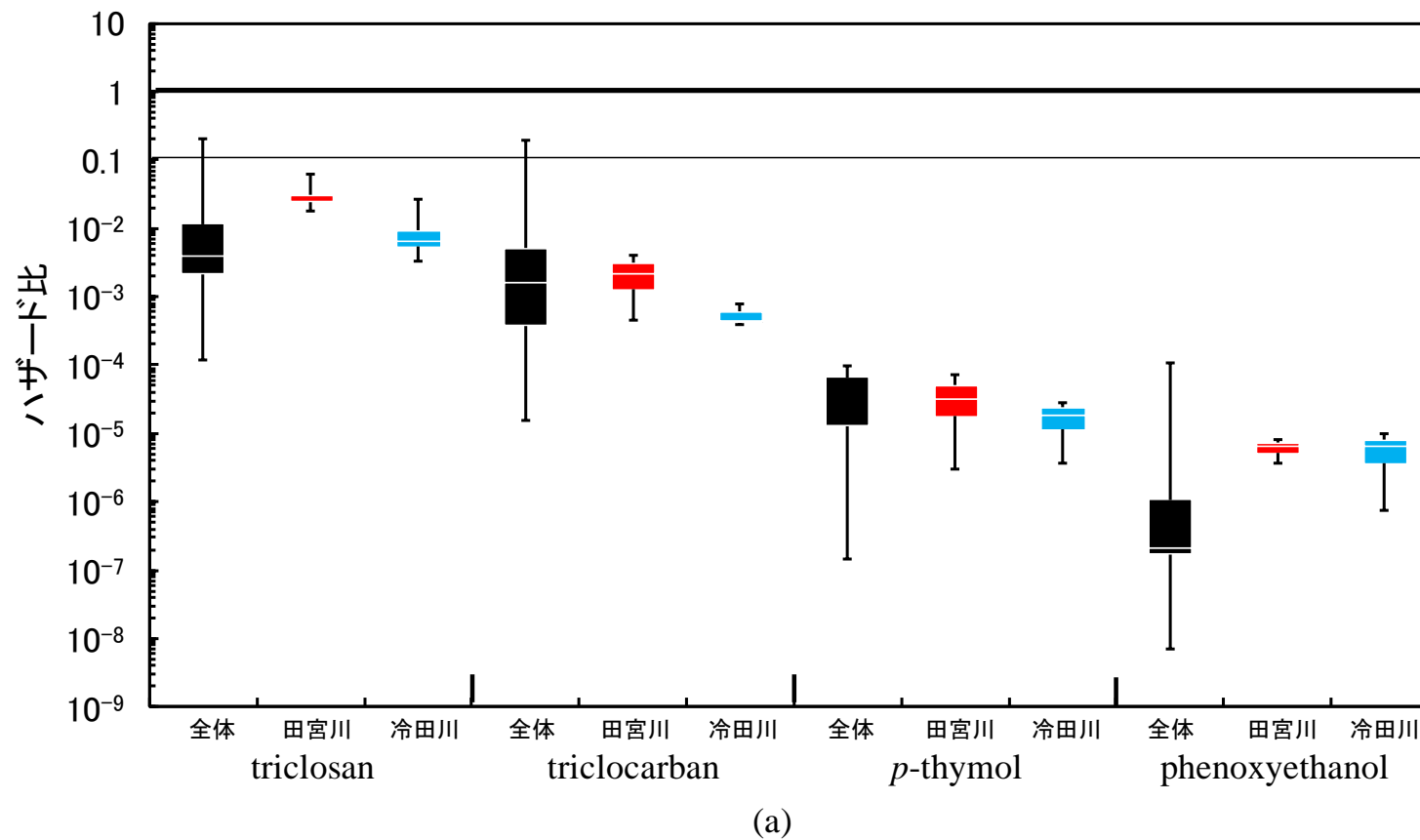
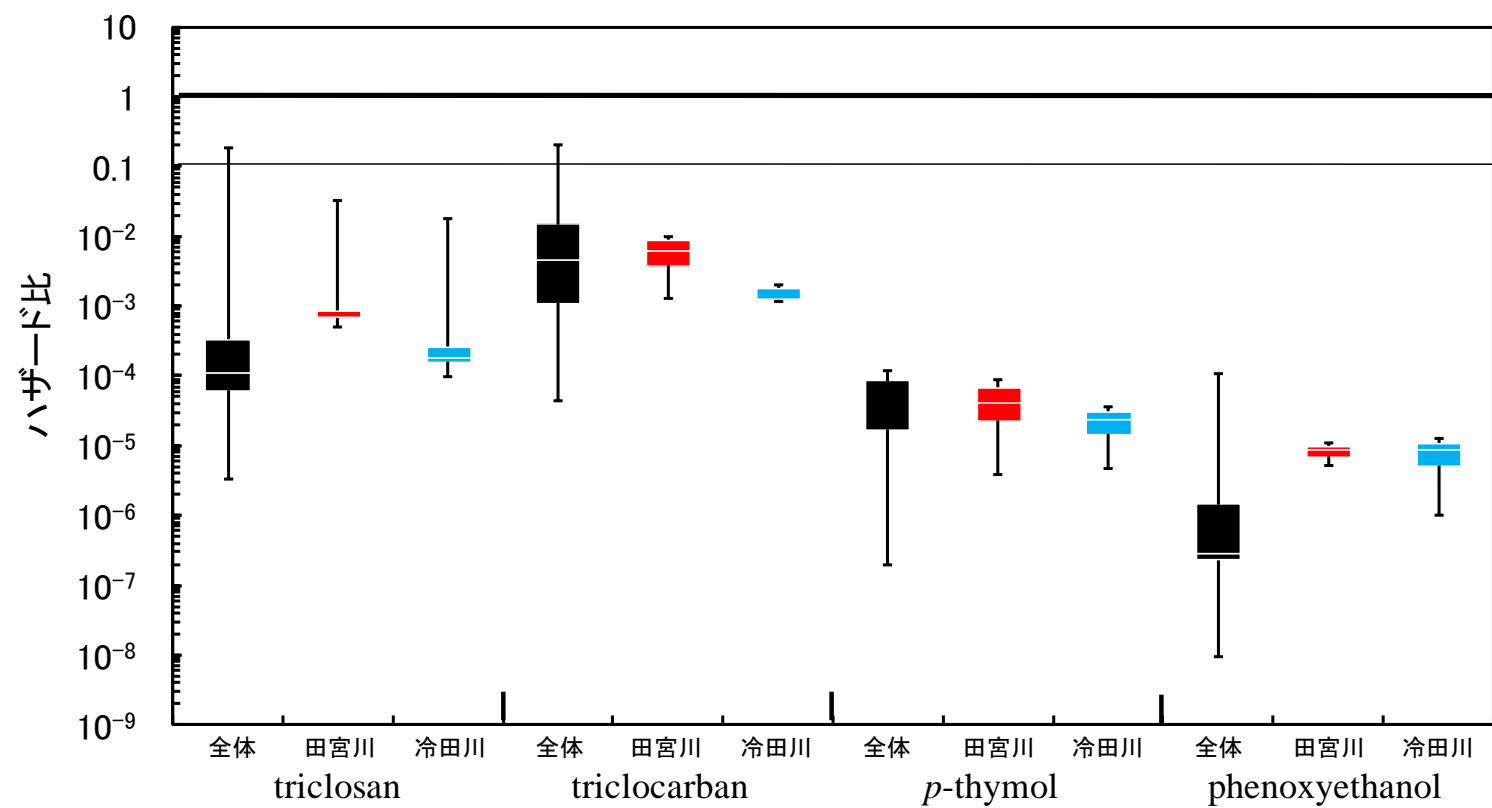


Figure 3.4 防菌・防カビ剤の急性毒性試験をもとに算出したハザード比の分布, (a)ムレミカツキモ, (b)オオミジンコ, (c)ヒメダカ  
 (■: 文献値全体, ■: 田宮川のみ, ■: 冷田川のみ, 箱ひげ図の箱の上下: それぞれ 75,25 パーセンタイル, 箱の中の線: 中央値, 太線: 安全性の基準であるハザード比 1, 実線: 安全率 10 を加えたハザード比 0.1)



(b)

Figure 3.4 (続き)

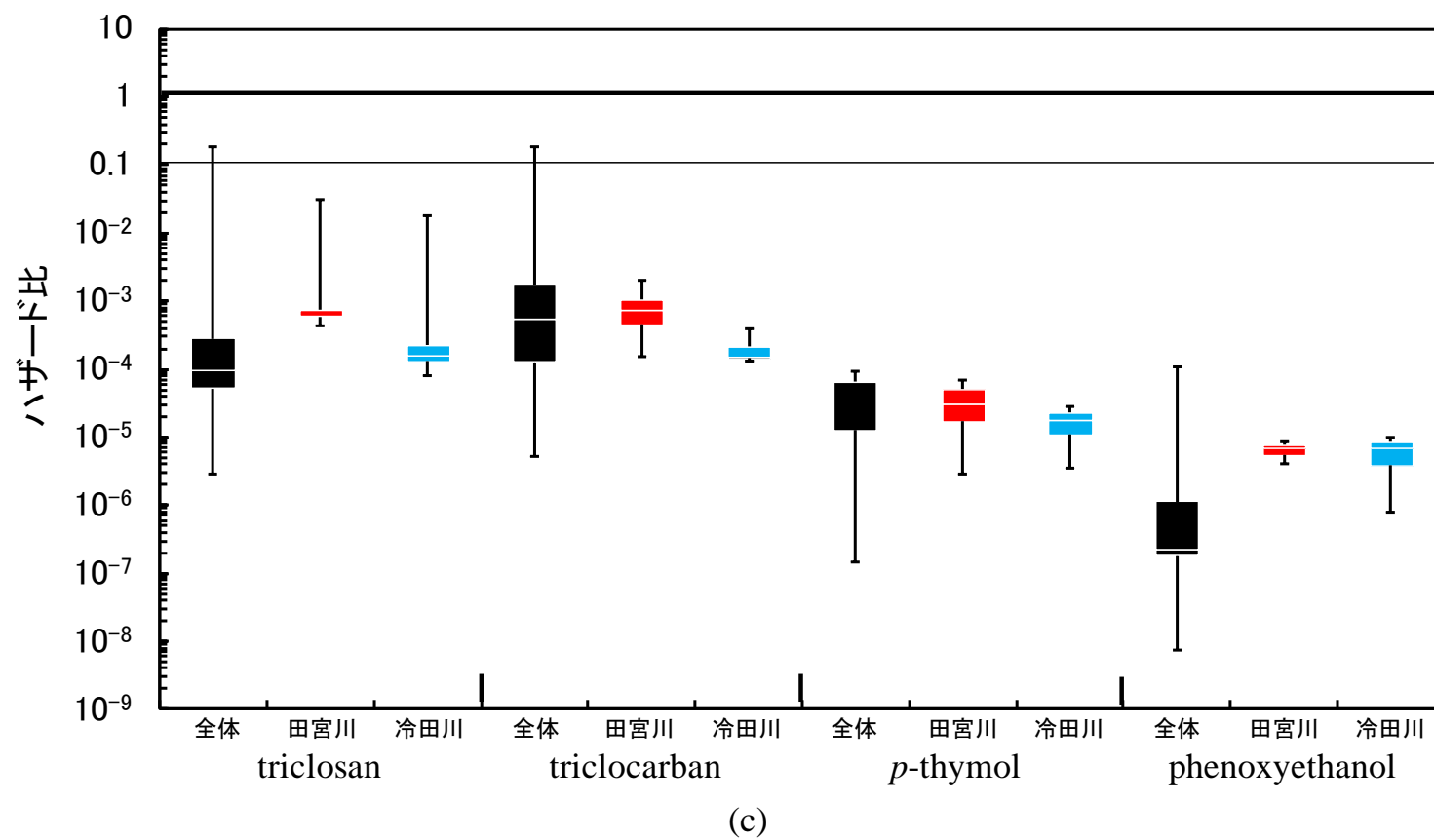


Figure 3.4 (続き)

田宮川、冷田川の評価結果に着目すると、triclosan のみハザード比の最大値が田宮川、冷田川いずれも 0.01 と 0.1 の間になっていたが、triclocarban やその他の物質については 0.01 を下回っていた。ハザード比の算出の際に毒性値は一定で、濃度測定値によって変化することから、測定濃度が比較的高い田宮川の方が冷田川よりもハザード比は高くなる傾向が見られた。また、田宮川と冷田川の triclosan 濃度は、今回引用した文献値全体の濃度分布と比べると、高い側に分布していることも明らかになった。

次に、慢性試験結果を用いてリスク評価を行った結果を Figure 3.5 に示す。慢性毒性試験ではムレミカヅキモの triclosan, triclocarban, ニセネコゼミジンコの triclocarban のハザード比が 1 を超えた。その他の物質のハザード比は  $10^{-3}$  を超えず、現時点の知見から推測される生態リスクは低いことが示唆された。田宮川、冷田川の評価結果では、中央値は文献値全体と比べてやや高いものの、最大値は藻類の triclosan のハザード比が 0.1 を超えており、家庭排水が未処理のまま流れ込む地域では藻類に対するリスクが高いことが示唆された。濃度測定データが比較的高い田宮川の方が、全ての防菌・防カビ剤について冷田川よりもハザード比も高かった。

既報における生態リスク評価結果は、Appendix J の Table J.1 にまとめる。triclocan の環境省のリスク初期評価書では、ムレミカヅキモの急性毒性値を用いてアセスメント係数 100 でハザード比が  $1.3^{46)}$  と報告されている。小森ら<sup>7)</sup>は、千葉県未処理の家庭排水が流れ込む下水道未整備地域の小河川では、triclosan 等の医薬品や化粧品由来

物質の濃度が下水道整備地域よりも 10 倍以上高い濃度で検出しており、ハザード比が 106 と生態リスクが懸念されると報告している。やや毒性値を過大評価しているため、本研究の毒性値をもとに再計算するとハザード比は最大で 0.68 であり、田宮川の最大値とほぼ同等であった。Brausch と Rand の総説における triclocan, triclocarban のハザード比(アセスメント係数はなし)の試算の最大値は 18<sup>47)</sup>であり、本研究の結果で算出した値よりもやや高いが、より詳細にリスク評価を行う必要があるという点では一致している。

*p*-thymol と phenoxyethanol については、これまで生態リスク評価結果を報告した例はなく、本研究の成果は新たな重要な知見といえる。この 2 物質については、triclosan や triclocarban, パラベン類などの代替品として使用されており、徳島市田宮川や冷田川からの濃度測定値<sup>45)</sup>も数百 ng/L ないし、10 µg/L 超とかなり高い。しかし、この 2 物質の水生生物 3 種に対する急性・慢性毒性は概して弱く、triclosan や triclocarban に比して生態リスクは低く、過去に当研究グループで報告したパラベン類の女性ホルモン作用を含めて加算的に評価した生態リスク<sup>17)</sup>に比べても十分に低く、代替品としては防菌・防カビ剤全体の生態リスクの低減に寄与しているものと考えられる。

徳島市の田宮川、冷田川については、ハザード比が triclosan と triclocarban で 0.1 と 1 の間であった。これは、このような下水道未整備地域では感受性の高い種によっては水生生物に悪影響を及ぼす可能性があることを示唆している。こういった地域では、



これらの防菌・防カビ剤の有害影響が生じないように，下水道や家庭雑排水も処理できる合併浄化槽の整備を促進するか，triclosan や triclocarban に代わって *p*-thymol などのよりリスクの低い代替品への移行を進めていくことが推奨される。

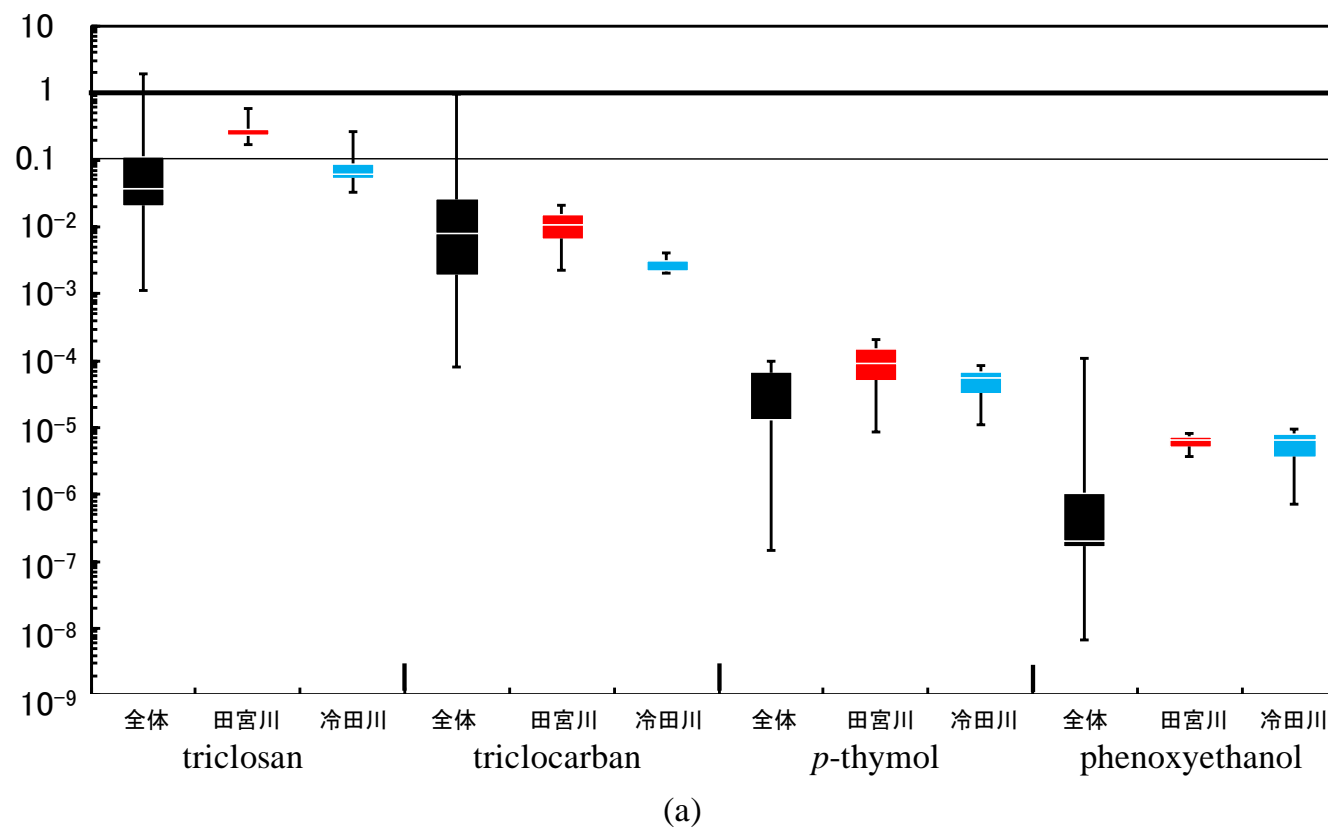


Figure 3.5 防菌・防カビ剤の慢性毒性試験をもとに算出したハザード比の分布,

(a)ムレミカツキモ, (b)ニセネコゼミジンコ, (c)ゼブラフィッシュ (■: 文献値全体, ■: 田宮川のみ, ■: 冷田川のみ, 箱ひげ図の箱の上下: それぞれ 75,25 パーセンタイル, 箱の中の線: 中央値, 太線: 安全性の基準であるハザード比 1, 実線: 安全率 10 を加えたハザード比 0.1)

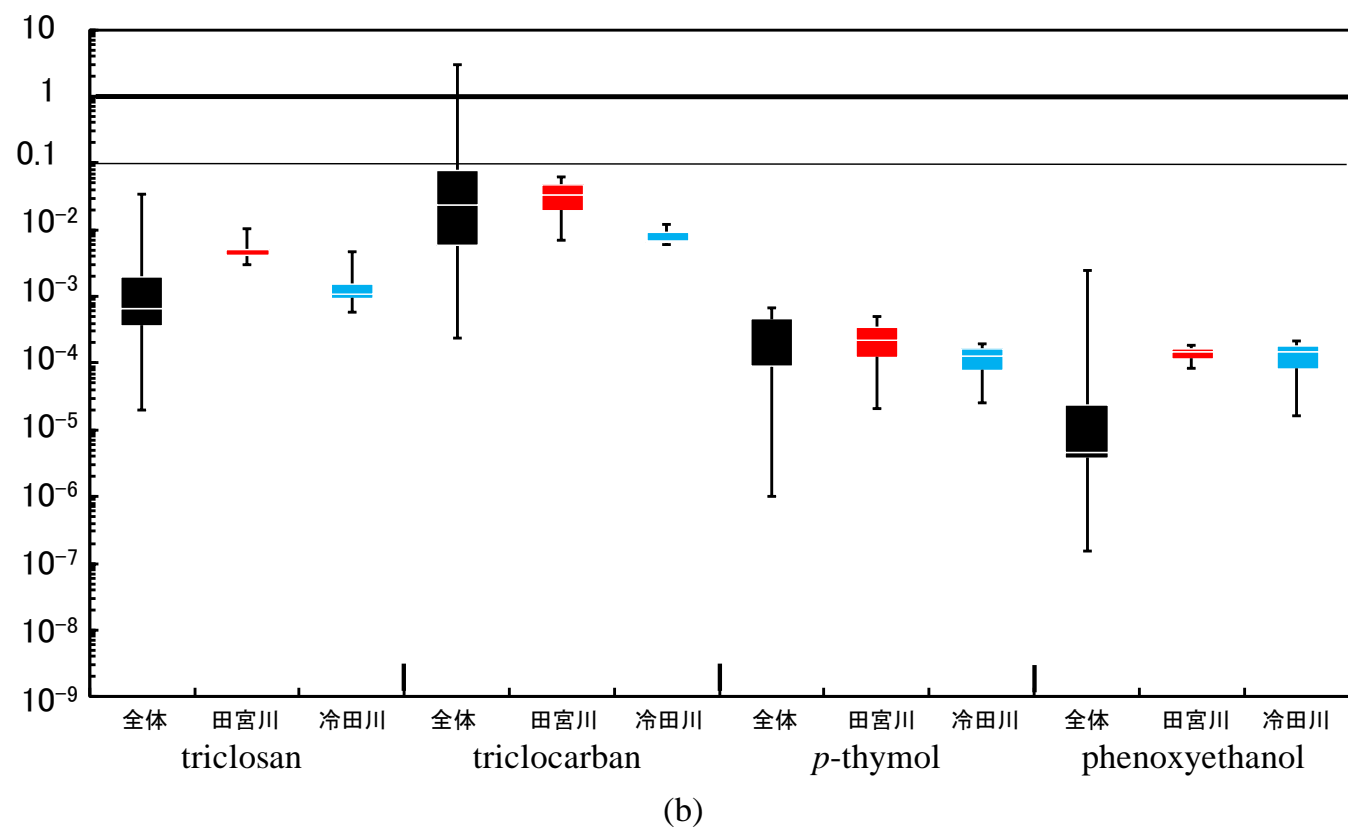


Figure 3.5 (続き)

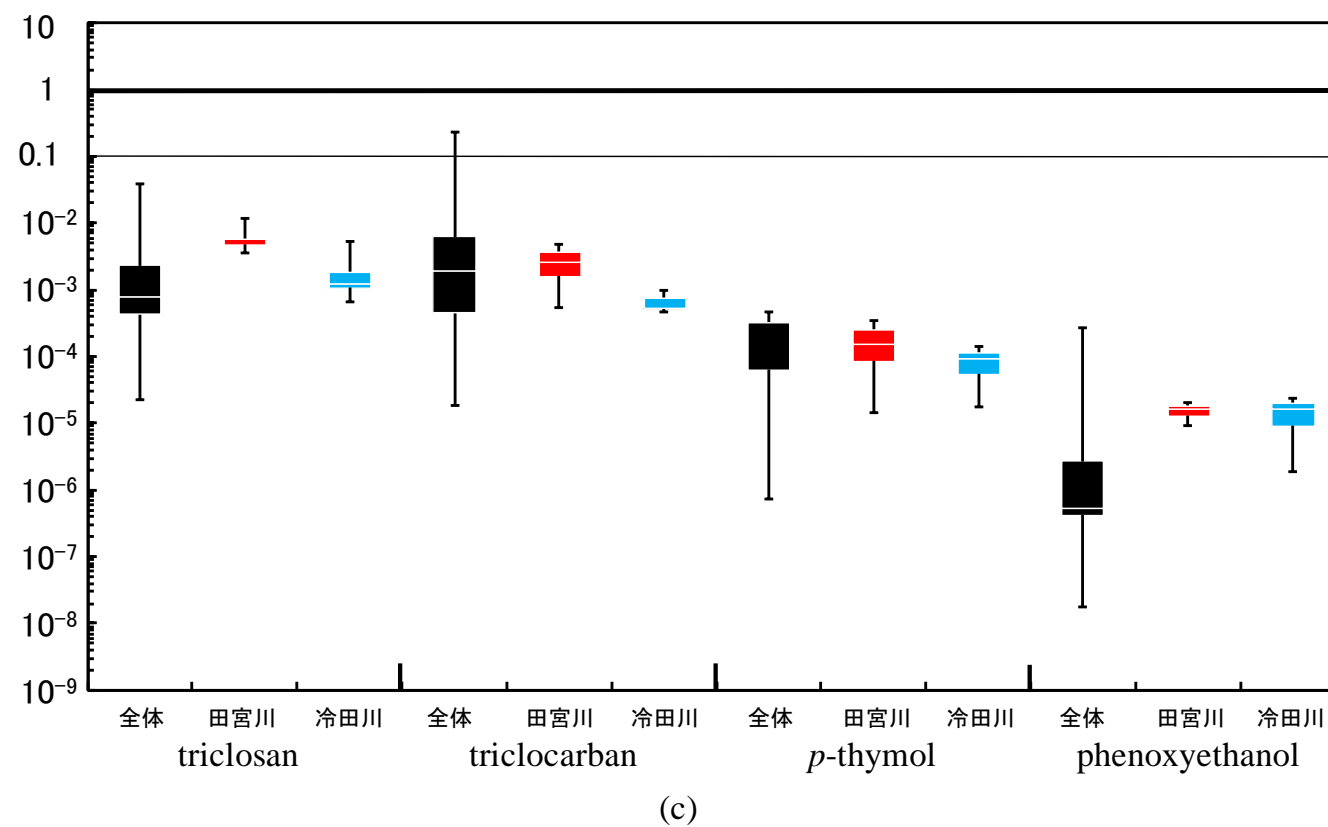


Figure 3.5 (続き)

## 第4章 試験用底生生物セスジユスリカを用いた毒性試験

### 4.1 セスジユスリカを用いた防菌・防カビ剤の毒性試験

#### 4.1.1 理論と試験方法

経済協力開発機構(OECD)の化学品テストガイドラインにおけるユスリカを用いた毒性試験には、試験物質の添加方法について水添加の No. 219<sup>48)</sup>と底質添加の No. 218<sup>49)</sup>の2種類が掲載されている。また、米国環境保護庁(USEPA)の農薬有害物質汚染防止局(OPPTS)のガイドラインにはヨコエビ(*Hyalella azteca*)を用いた方法<sup>50)</sup>として、同様に水添加と底質添加の両方が掲載されている。本研究では、世界的に標準な方法であり、かつ国内種のユスリカが試験生物として指定されている経済協力開発機構のガイドラインに従って実施することとした。さらに、底質汚染の評価系としては底質添加の No. 218<sup>48)</sup>が優れていることが指摘されている<sup>51)</sup>ため、国内種のセスジユスリカ(*Chironomus yoshimatsui*)を用いて No.218 の慢性毒性試験を行った。セスジユスリカは、国立環境研究所から分譲を受けた卵塊を水槽中で孵化させたものを用いた。培養水はオオミジンコの飼育用培地である Elendt M4 培地(Appendix F, Table F.2)を利用し、餌は水に溶かした熱帯魚用のエサであるテトラミン® (テトラジャパン社製)を与えた。

triclosan と triclocarban 以外の *p*-thymol, phenoxyethanol などは第2章で底質への移行が小さく水生生物への毒性も弱いこと、河川底質からも検出されないことが多いこ

とから、底生生物を用いた毒性試験では、対象物質は triclosan と triclocarban の 2 物質とした。人工底質(Appendix F, Table F.4)は以下のように作成した。300 mL ビーカーにケイ砂を入れ、試験物質のアセトン溶液を添加し、窒素パージしてアセトンを蒸発乾固させた。このケイ砂の上にカオリン（東京化成から購入）とコーヒーマイルで粉碎して 250  $\mu\text{m}$  のふるいにかけてピートモス（王子木材緑化株式会社から購入）を追加した。これらを少量の培地で湿潤させ混合し、底質が巻き上がらないようにサイフォンで残りの培地を注入した。孵化後 24 時間以内の 1 齢幼虫を各ビーカーあたり 15 匹入れ、公比 1.5~2 で 6 濃度区+blank を各 3 連用意し、曝露試験を行った。曝露中は溶存酸素不足にならないようエアープンプを用いて空気を供給した。実験装置を Figure 4.1 に示す。エンドポイントは羽化とし、20 日間の最大無影響濃度(20 d-NOEC)を算出した。なお、データの解析には、第 3 章の水生生物と同様に Ecotox-Statics ver.2.6d<sup>33)</sup>を利用した。

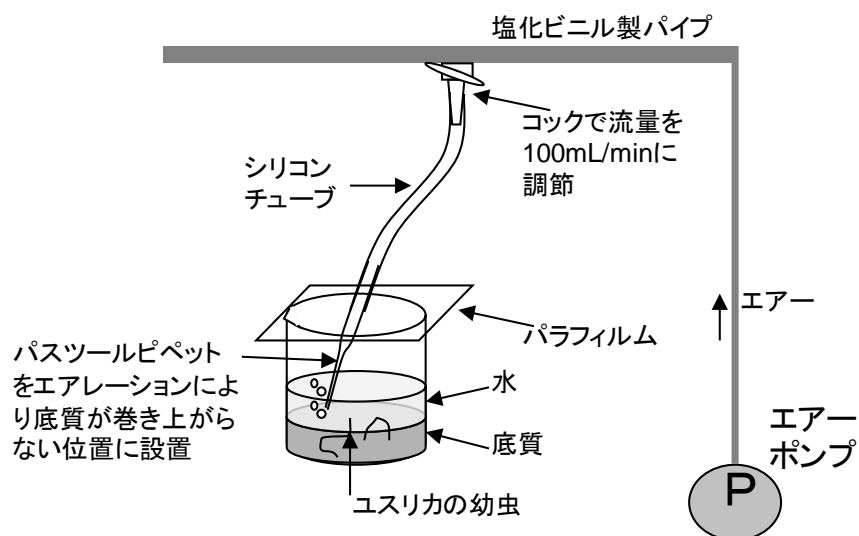
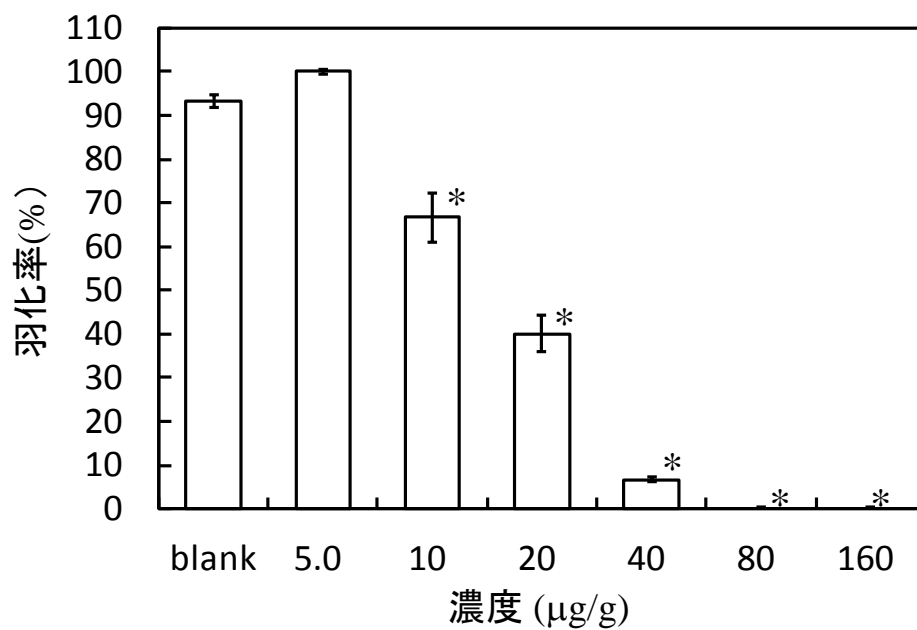


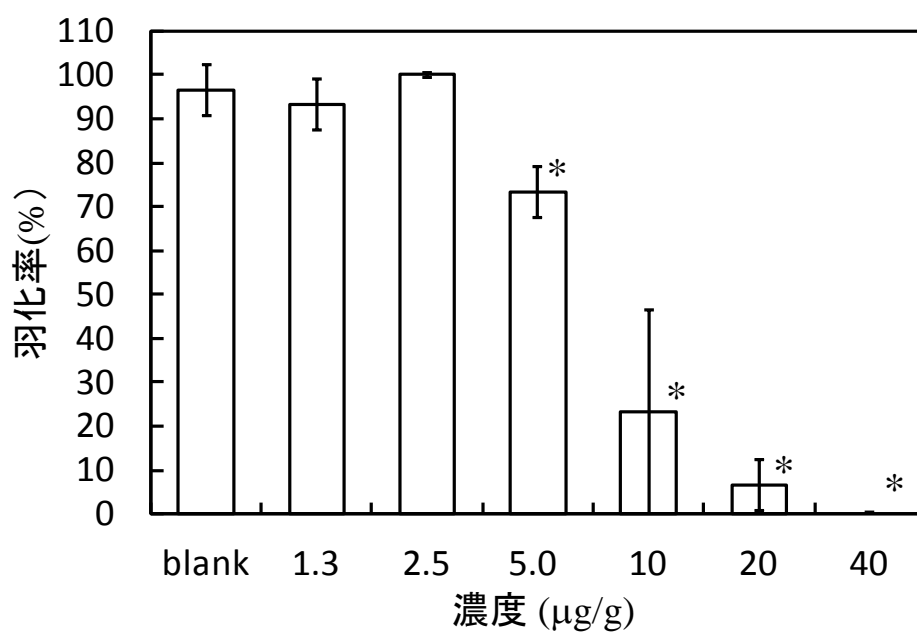
Figure 4.1 ユスリカ試験の試験装置の模式図

#### 4.1.2 結果と考察

個別物質の毒性試験の結果を Figure 4.2 に示す。triclosan は 10 mg/kg, triclocarban は 5.0 mg/kg でそれぞれ blank よりも有意に羽化率が減少して、濃度依存的に羽化率が減少する様子が確認できた。最大無影響濃度( $\text{NOEC}_{\text{chem}}$ )は triclosan が 5.0 mg/kg, triclocarban が 2.5 mg/kg と、triclocarban の方がやや毒性が強いことがわかった。



(a)



(b)

Figure 4.2 セスジユスリカの個別物質の毒性試験結果,  
(a)triclosan, (b)triclocarban (エラーバー: 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ )



これまでに他の研究者によって報告された底生生物を用いた triclosan と triclocarban の毒性試験結果を Appendix H の Table H.3 にまとめる。水生生物ほど多くないが、triclosan については、ユスリカやヨコエビを用いた研究例が複数ある。しかし、水への添加実験であり、底質に添加した例はなく新たな知見といえる。triclocarban についての報告例も情報が限定的であり、新たな知見といえる。

## 4.2 セスジユスリカを用いた河川底質の毒性試験

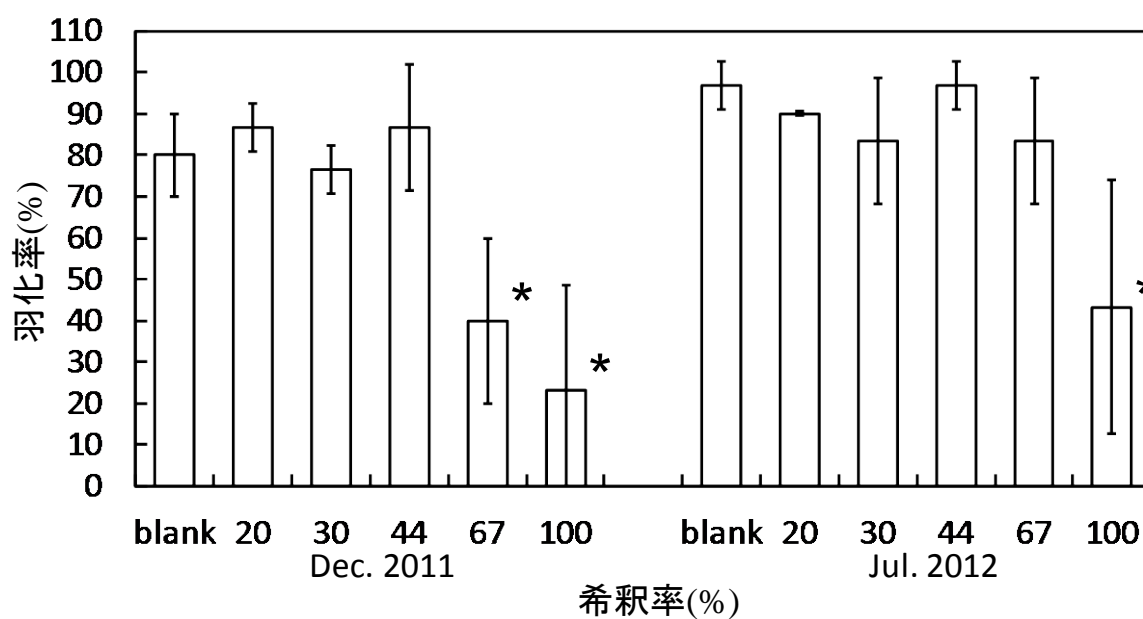
### 4.2.1 理論と試験方法

米国環境保護庁(USEPA)の農薬有害汚染物質防止局(OPPTS)の Whole Sediment Test (河川底質を用いた毒性試験)<sup>52)</sup>と経済協力開発機構の化学品テストガイドライン No. 218<sup>49)</sup>を参考に試験法を改良した。河川底質は人工底質で希釈する方法を用いて、100%, 67%, 44%, 30%, 20%の5濃度区で試験を実施した。エンドポイントは上記の個別物質と同様に羽化とした。河川底質は徳島市近郊西部の田宮川の蔵本公園ならびに西消防署付近と南部の八万町を流れる冷田川の川南橋付近の2箇所の河川底質を採取した(Figure 1.1)。河川底質は試験まで4°Cで保存した。試験前に5 mm メッシュのふるいにかけて大きなゴミを取り除き、2 mm メッシュのふるいにかけて、生息しているユスリカなどがいる場合は慎重に取り除いた。遠心分離(3,000 rpm, 5 min)し、上澄みを取り除き、一部を乾燥させ、水分含量を求め乾燥重量ベースで河川底質を希釈し

た。

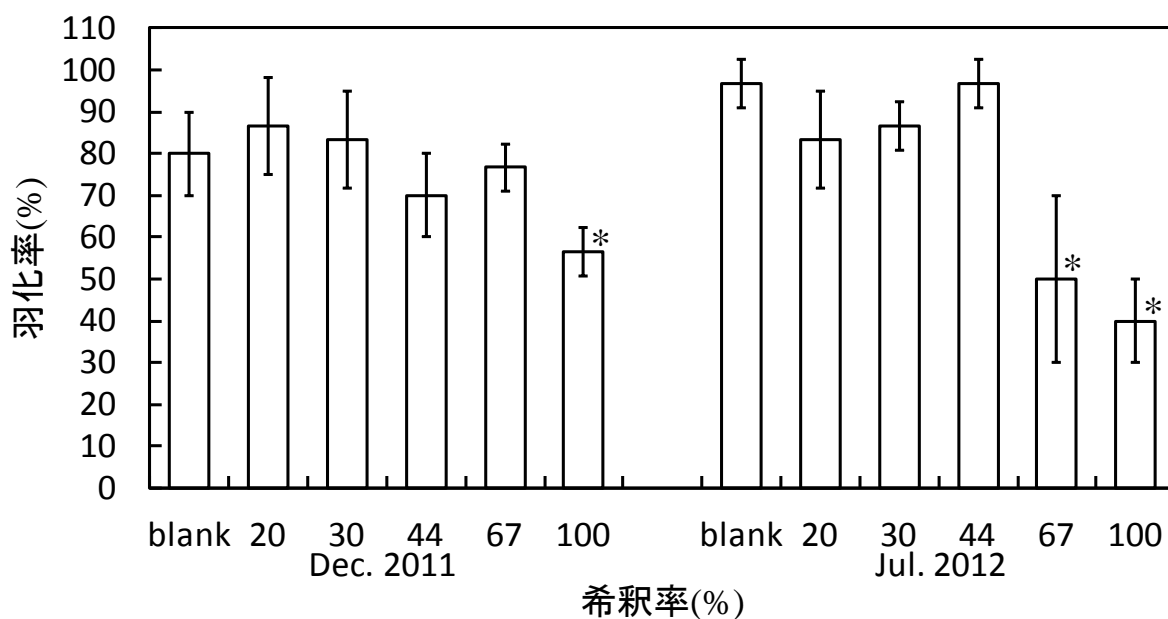
#### 4.2.2 結果と考察

河川底質の毒性試験の結果を Figure 4.3 に示す。最大無影響濃度( $\text{NOEC}_{\text{sed}}$ )は田宮川の12月、7月がそれぞれ44%、67%、冷田川ではそれぞれ67%、44%であった。



(a)

Figure 4.3 セスジユスリカ河川底質毒性試験結果, (a) 田宮川, (b)冷田川 (エラーバー: 標準偏差, \*:  $p < 0.05$ )



(b)

Figure 4.3 (続き)

ユスリカを用いた河川底質の毒性を評価した従来の研究として、Galluba ら<sup>53)</sup>は本研究と同じ経済協力開発機構ガイドライン No. 218 の方法でドブユスリカをドイツで最も人口密度が高い地域を流れる河川底質 100%に曝露した際、致死率に blank と有意な差が出たのは 50 サンプル中 5 サンプルであったと報告している。そのうち 80%という最も高い致死率を示したサンプルは、上層水の pH が 4.6 と低くなったことが原因と考えられると報告されている。本研究では 100%底質での羽化阻害率は田宮川底質の 77%(羽化率 23%)が最大であり、そのほかの底質も羽化阻害率が 44~77%の間であった。pH は 6.1~8.0 と、試験期間中に 0.4~1.5 の変動が観察されており、最終的

に 65%が減少し, 35%が上昇していた。なお, 変動幅と羽化阻害率の相関はなかった。

人工底質の TOC は 2%であり, 冷田川底質は 0.6%, 田宮川底質は 1.0%と 2 倍程度の差があった。人工底質が少ない(ピートモスが少ない)濃度区ではフミン酸の濃度が低く, pH の中和作用が弱く pH が上昇する可能性または人工底質が多い濃度区で pH が低下する可能性が考えられるが, 人工底質の割合が少ない濃度区で特に pH の変動が顕著である傾向は認められなかった (Table 4.1 および Table 4.2)。

Table 4.1 底質毒性試験前後の pH (2011 年 12 月試料)

		blank	20%	30%	44%	67%	100%
田宮川	試験開始時	7.8	7.5	7.4	7.5	7.6	8.1
	試験終了時	6.2	6.2	6.2	6.3	6.5	7.1
冷田川	試験開始時		8.0	8.0	7.9	7.7	7.6
	試験終了時		6.1	6.0	6.0	6.1	6.4

Table 4.2 底質毒性試験前後の pH (2012 年 7 月試料)

		blank	20%	30%	44%	67%	100%
田宮川	試験開始時	7.4	7.6	7.6	7.5	7.7	7.8
	試験終了時	6.6	6.7	7.5	7.7	7.8	7.8
冷田川	試験開始時		7.6	7.7	7.6	7.8	7.8
	試験終了時		7.4	7.1	7.0	7.3	7.9

本研究と類似した研究としては、市木ら<sup>54,55)</sup>の研究グループが、道路排水や道路塵埃のセスジユスリカへの有害性を調べる研究を実施しており、一部で河川底質について、人工底質で希釈してセスジユスリカの羽化率を調べている。希釈しない道路塵埃の羽化率への影響については有効な結果が報告されている<sup>54)</sup>が、界面活性作用を有する物質の影響から、人工底質を用いた実験では用量-応答反応を示す有効な結果が得られていない<sup>55)</sup>。他にも、米国では先に示した米国環境保護庁(USEPA)の農薬有害汚染物質防止局(OPPTS)の河川底質を用いたガイドラインに準じて、ヨコエビやユスリカを用いた毒性試験や毒性同定評価に関する研究例がいくつか報告されている。

Mehler らによる米国中西部のイリノイ州の河川底質の毒性をヨコエビで評価し、毒性同定評価を実施した報告によると、自動車排ガス等に由来する多環芳香族炭化水素類(PAHs)の寄与が大きいことが示唆されており<sup>56)</sup>、幹線道路脇である徳島市の田宮川の蔵本公園付近についてもその影響を受けている可能性がある。国内では、渡部らがカイミジンコを用いて東京都心付近の河川底質の毒性同定評価を実施した例があるが、重金属類と PAHs 等の疎水性有機物の複合的影響であることを指摘しており<sup>57)</sup>、田宮川や冷田川は東京都心部のように道路交通や重工業に汚染度は高くないものの、一部ではその影響を受ける可能性があるとし唆される。

## 4.3 底質濃度測定

### 4.3.1 理論と試験方法

上記で毒性試験を実施した河川底質と同時に採取した底質試料は既報<sup>58,59)</sup>に従って化学分析を依頼した。いずれの底質サンプルも 3,000 rpm で 10 分間遠心分離して上澄みを除去し、2 mm のふるいにかけて大きなゴミや石を取り除いた。triclosan は、LC-MS/MS の分析では親イオン( $m/z=287$ )の主要なフラグメントである娘イオンが塩素由来の  $m/z=35$  となるため、感度が不十分である。そこで、さいたま市健康科学研究センターで GC-MS を用いて測定した。既報<sup>59)</sup>に準じた方法で、凍結乾燥した底質を酢酸エチルで超音波抽出したのち、メタノールで超音波抽出した。窒素ページして蒸発乾固したのちジクロロメタンに転溶し、シリル化誘導体化試薬である BSTFA で誘導体化した。これを InertsepGC (GL Science Co.)で固相抽出し、ヘキサンで溶出、再度ジクロロメタンに転溶後イオントラップ型の GC-MS (Polaris-Q, Thermo)で分析した。また、マトリックス影響も含めた回収率補正をするため、サロゲートとして、triclosan の  $^{13}\text{C}$  ラベル化体を標準品として添加して前処理・測定をおこなった。triclocarban については、京都大学工学研究科流域圏総合環境質センターで測定した。ふるいにかけて底質を既報<sup>58)</sup>の方法の抽出溶媒を 10% メタノール溶液に変更して超音波抽出し、LC-MS/MS の MRM モードで分析した。マトリックス影響も含めた回収率を補正するため、サロゲートとして triclocarban の  $^{13}\text{C}$  ラベル化体を標準添加した。

### 4.3.2 結果と考察

triclosan, triclocarban の底質中濃度を Table 4.3 に示す。2 物質ともに 60~170 ng/g の範囲内で徳島市の田宮川底質および冷田川底質の両方から検出された。

Table 4.3 河川底質中の濃度測定結果

防菌・防カビ剤	サンプリング河川	サンプリング時期	濃度(ng/g)
triclosan	田宮川	Dec.2011	106
		Jul.2012	117
	冷田川	Dec.2011	66
		Jul.2012	69
triclocarban	田宮川	Dec.2011	61
		Jul.2012	172
	冷田川	Dec.2011	87
		Jul.2012	95

triclosan や triclocarban の河川底質中の濃度モニタリングに関する研究例は、近年増加している。それらを Appendix I の Table I.2 に示す。最も高く検出されたのは、中国の高度経済成長地域である広東省広州市郊外の中小河川の底質からで、triclosan が 1,329 ng/g, triclocarban が 2,633 ng/g<sup>60)</sup>と報告されている。国内では、雨天時の合流式下水道の越流の影響を受ける東京湾の底質から最大で triclosan で 1,700 ng/g, triclocarban で 3,000 ng/g<sup>15)</sup>という濃度で検出されている。本研究で冷田川底質および田宮川底質から検出された濃度は、60~120 ng/g 程度であり、中国のホットスポット

の値よりは低いものの、欧米での検出値<sup>13,14)</sup>よりもやや高かった。

#### 4.4 生態リスク初期評価

セシジユスリカに対する生態リスク評価の結果を Figure 4.4 に示す。環境中濃度を個別物質の毒性試験で求めた最大無影響濃度(NOEC)で除したハザード比は、triclocarban の最大値が 1 を超過していたが、これは中国における非常に高い測定値に基づくものである。田宮川、冷田川については、triclosan, triclocarban とともに 0.01~0.1 の間であった。triclocarban の方がやや毒性が強く、検出濃度も高いことから、ハザード比についても、triclosan よりやや高かった。田宮川と冷田川を比較すると、水生生物の場合(Figure 3.4, 3.5)と同様に検出濃度が高い田宮川の方がやや高くなる傾向があった。



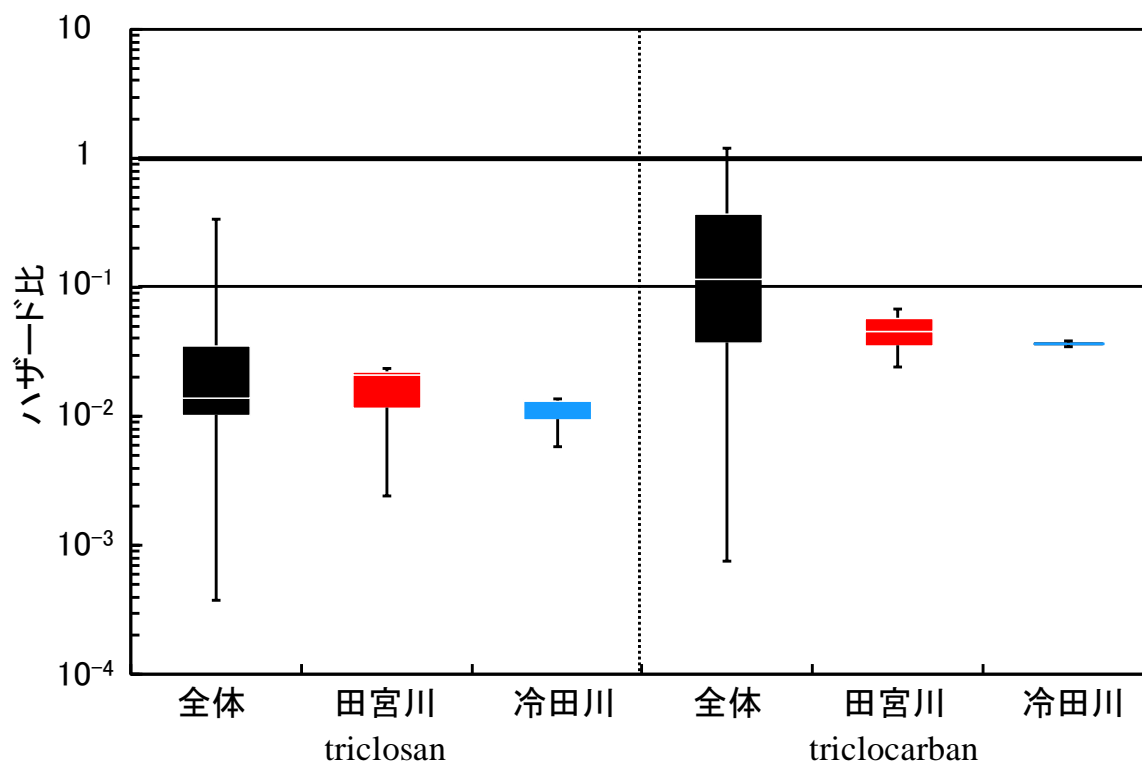


Figure 4.4 セスジユスリカに対する生態リスク評価結果, (箱ひげ図の箱の上下: それぞれ 75, 25 パーセンタイル, 箱の中の線: 中央値, 太線: 安全性の基準であるハザード比 1)

Dussault ら<sup>16)</sup>は底生生物への triclosan のハザード比が 11.5 と報告しており, 本研究の結果より 500~800 倍高かった。これはアセスメント係数を 1,000 と過大に設定していることや全米一斉調査時の最高濃度(2.3 µg/L)で評価している起因し, 比較のために本研究と同様にアセスメント係数を除外すると triclosan の底生生物に対するリスクは本研究の結果とほぼ同程度であった。Zhao ら<sup>60)</sup>は底質の濃度を間隙水の濃度へ変換して triclosan と triclocarban の水生生物に対するリスク評価を実施しており, ハザード比は本研究結果より 130~1,400 倍高かった。これは, 中国南部の河川底質中濃度が

本研究結果より 10~20 倍高いこと、底生生物ではなく水生生物への有害影響に変換して評価していることに起因していると考えられる。Zhao らの評価結果<sup>60)</sup>は、本研究の水生生物に対するリスク評価結果の最大値(Figure 3.4, 3.5)とはほぼ同程度である。本研究結果での triclosan および triclocarban の底生生物への生態リスクのレベルは 0.01 と 0.1 の間であり、種間の感受性の違い（通常は 10 倍）や個体差（通常は 10 倍）を考えると、今後より詳細なリスク評価を行う必要があるレベルである。河川底質全体における個別物質の毒性への寄与については、第 5 章において評価を行うこととするが、単純に河川底質自体の毒性は検出されたものの triclosan, triclocarban の濃度レベルのハザード比は 0.01~0.1 の間であり、triclosan や triclocarban の毒性の河川底質自体の毒性への寄与は大きくないことが明らかになった。先述したように、自動車等の道路交通由来の多環芳香族炭化水素類(PAHs)や重金属類の寄与が大きい可能性が考えられる。

## 第5章 河川環境中における防菌・防カビ剤の動態と全毒性への寄与率

### 5.1 河川環境中における防菌・防カビ剤の挙動の推定

#### 5.1.1 河川環境中に排出される防菌・防カビ剤量の推定

第2章において、河川水中での生分解や太陽光による光分解、河川底質への収着を詳細に調べた triclosan, triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanol の4物質について、水環境中への排出量を推定した。環境中への防菌・防カビ剤の排出量は以下の2式から推定した。

$$\begin{aligned} (\text{防菌・防カビ剤排出量}) = \sum \{ & (\text{薬事工業動態統計の化粧品 } i \text{ の出荷量}) \\ & \times (\text{化粧品 } i \text{ からの平均検出頻度}) \\ & \times (\text{製品中の最大配合率}) \} \quad (5.1) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} (\text{防菌・防カビ剤排出量}) \leq & (\text{薬事工業動態統計化粧品出荷量}) \times (\text{検出頻度}) \\ & \times (\text{製品中の最大配合率}) \quad (5.2) \end{aligned}$$

ここで、式(5.1), (5.2)に必要な情報は、薬事工業動態統計の平成23年度の値<sup>61)</sup>、国内外での化粧品全体からの各防菌・防カビ剤の検出頻度の文献値<sup>62,63)</sup>、各化粧品からの各防菌・防カビ剤の検出頻度の文献値<sup>64)</sup>、国内で定める製品中の防菌・防カビ

剤の最大配合率<sup>65)</sup>などを利用した。

また、合わせて一人一日当たりの防菌・防カビ剤の排出量から、未処理の下水中に含まれる濃度を算出した。

$$\begin{aligned} \text{(未処理下水中の防菌・防カビ剤濃度)} = & \text{(一人一日あたりの防菌・防カビ剤排出量)} \\ & / \text{(一人一日当たりの水道使用量)} \quad (5.3) \end{aligned}$$

式(5.1)は、液体および固体石鹸の出荷量を使用して triclosan と triclocarban の2種に用いた。式(5.2)は、4種すべてについて推算した。推算結果を Table 5.1 に示す。

Table 5.1 防菌・防カビ剤の環境中への排出量と未処理家庭排水中の推定濃度

	排出量(t/年)		未処理の家庭排水中の推定濃度(μg/L)	
	式(5.1)	式(5.2)	式(5.1),(5.3)	式(5.2),(5.3)
triclosan	35	≤42	2.6	≤3.0
triclocarban	6.7	≤13	0.49	≤0.94
<i>p</i> -thymol	—	≤6.4	—	≤0.46
phenoxyethanol	—	≤1,300	—	≤94

triclosan についてのみ、統計データが文献<sup>46)</sup>に記載されているが、1995年というやや古いデータでその輸入量だけであり、値は20tとなっている。推定の結果、米国の

液体・固形石鹼中からの検出頻度<sup>64)</sup>から換算すると 35 t となる一方、平成 16~18 年度の日本の化粧品からの検出頻度を用いた場合は 0.71 t と 20 t よりかなり少量であった。逆に、2012 年の中国の化粧品からの検出頻度から推定した場合は 42 t となり、triclosan 使用量が 1995 年と比較して極端に減少しているとは考えにくく、35 t やこの値のほうにより現実的な数値であると考えられる。triclocarban については、中国の化粧品 168 種中 1 種からも検出されていないという報告<sup>63)</sup>があり、年間消費量は 13 t 未満であると推定される。

*p*-thymol, phenoxyethanol については平成 16~18 年の日本製化粧品における検出頻度を使用して推定した。しかしながら、式(5.2)で使用した最大配合率は、実際の化粧品からの検出濃度でなく薬事法等で定められている最大濃度であり、全ての製品にその濃度で配合されているわけでないため、過大評価される可能性がある。その点を考慮したとしても、phenoxyethanol については他の 3 物質と比較して大量に利用されていることが推定され、その未処理の家庭雑排水中の推定濃度は 94 µg/L と非常に高い。そのため、第 2 章で示したように phenoxyethanol の生分解性は比較的高くても、河川水中から数 µg/L レベルで検出<sup>45)</sup>されていると考えられる。*p*-thymol は下水処理場で 90%以上分解されることがわかっている<sup>25)</sup>が、河川中に直接放出された場合はほとんど分解されない可能性があることが第 2 章で指摘された。実際に木村ら<sup>45)</sup>の報告では、生活排水の汚濁負荷が高い徳島市の田宮川や冷田川を含む都市河川では最大 715 ng/L

と比較的高濃度で検出されており，この値は上記の未処理の排水中の推定濃度とかなり近い。また，*p*-thymol については，下水道未整備地域や合流式下水道の雨天時流出により環境中に放出された場合，河川中に長期の間比較的高濃度で存在する可能性がある。triclosan, triclocarban の検出濃度についても，先に示した木村らの分析データ<sup>45)</sup>や一部の中国等での検出データ<sup>60)</sup>ではこの未処理の生活排水水中の濃度に近い値もしくは場合によってはそれ以上で検出されている。

本研究では，下水道未整備地域である田宮川や冷田川への流域からの防菌・防カビ剤の負荷量を上記の未処理家庭排水中の推定濃度や下水処理場での推定除去率などを用いて推算した。

$$\begin{aligned} (\text{負荷量}) = & C_{\text{untreated}} \times (\text{流域人口}) \times (1 \text{ 人一日当たりの水道使用量}) \times \{ (\text{汲み取りおよび単独浄化槽の比率}) + (\text{合併浄化槽の比率}) \times (100 - \text{下水処理場での除去率}) \} \\ & (5.4) \end{aligned}$$

ここで， $C_{\text{untreated}}$ ：未処理の家庭排水中濃度  $\mu\text{g/L}$  を指す。この式(5.4)より求められた流域の負荷量を Table 5.2 に示す。なお，同様の triclosan ほか医薬品類の負荷量を下水道未整備地域について小森ら<sup>7)</sup>も報告しているが，この報告値は河川水中からの濃度と流量から逆算したもので，本研究のアプローチとは大きく異なる。

Table 5.2 田宮川および冷田川への推定負荷量

	田宮川(g/d)	冷田川(g/d)
triclosan	≤4.4	≤2.6
triclocarban	≤1.4	≤0.84
<i>p</i> -thymol	≤0.68	≤0.40
phenoxyethanol	≤136	≤81

Table 5.2 に示すように、負荷量は流域人口がやや多い田宮川（11,000 人）の方が冷田川（6,500 人）よりも大きい値となった。また、負荷量が最も多い物質は、未処理の家庭排水濃度が最も高いと推定される phenoxyethanol で、次いで triclosan, triclocarban または *p*-thymol という順であった。

### 5.1.2 河川中での挙動

次に、第 2 章の生分解・光分解および底質への収着試験の結果から、水環境中に排出された防菌・防カビ剤の挙動を推定した。実際の冷田川の川幅は 6.4 m で水深は 11~25 cm, 田宮川の川幅は 5.0 m で水深は 15~30 cm である。また深さ 1 cm までの底質に各防菌・防カビ剤が収着すると仮定し、以下のように河川水中残留分と底質中へ移行する防菌・防カビ剤を推定した。

$$L_w = C_w \times W \times D \times L \times 1000 \quad (5.5)$$

$$L_s = C_w \times K_D \times \rho \times D \times H \times L \times 1000 \quad (5.6)$$

ここで、 $L_w$ : 水中に残留する防菌・防カビ剤の負荷量、 $L_s$ : 底質中移行する防菌・防カビ剤の負荷量、 $C_w$ : 河川水中濃度 mg/L、 $W$ : 川幅 m、 $D$ : 水深 m、 $L$ : 河川延長 m、 $K_D$ : 田宮川底質への収着係数 L/kg、 $\rho$ : 田宮川底質単位体積当たりの重量 kg/L、 $H$ : 底質の深さ m となっている。

また、水中に残留した防菌・防カビ剤の光分解や生分解による減少についてのモデル化もおこなった。第2章で得られた結果を使用し、以下の式で水中に残留した防菌・防カビ剤の1時間後及び24時間後の減少量を推定した。この際の考え方は、排水口から排出された水塊が流れている Lagrange 的な見方をしたものと仮定する。

$$L_w' = (C_w - C_w \times \text{EXP}(-k_p - k_b)t) \times W \times D \times L \times 1000 \quad (5.7)$$

ここで、 $L_w'$ : 減少した防菌・防カビ剤負荷量、 $k_p$ : 光分解速度定数、 $k_b$ : 生分解速度定数、 $t$ : 経過時間を表す。さらに、triclocarban は生分解試験において、河川水中のコロイドなどに吸着して減少したと考えられたため、水中に残留したものが、河川水中のコロイドに吸着する割合についても推定した。



上記の式をもとに排出された防菌・防カビ剤 4 種 (triclosan, triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanol) の水相および底質の存在割合を Figure 5.1~5.4 に示す。Figure 5.1 および 5.2 に示すように、田宮川、冷田川ともに triclosan と triclocarban の 2 物質はそのほとんどが底質に移行するものと推定される。しかしながら、これは水環境中に排出後に水相が完全混合され、瞬間的に底質に収着していることを仮定したものであり、実際に排水口などが連続して存在する田宮川や冷田川のような河川では底質移行分をやや過大評価している可能性がある。*p*-thymol は田宮川、冷田川ともにほとんどが水相に残存し、*p*-thymol は 1~3 割が移行するなど、水相中にとどまる傾向が強いことが推定された。

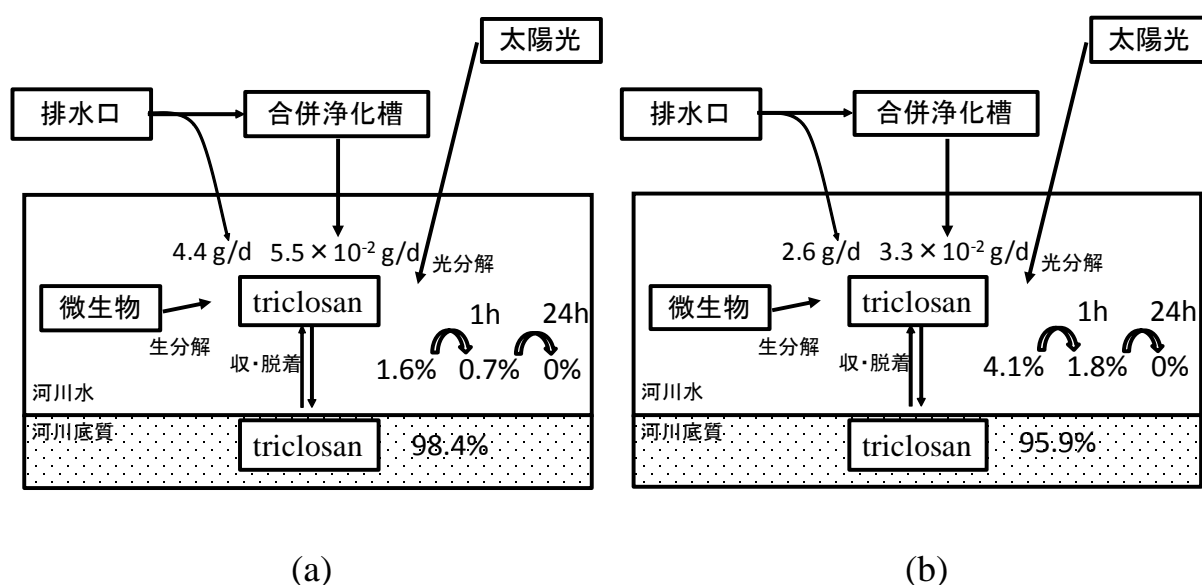


Figure 5.1 triclosan が排水口から水環境中に放流された際に推測される挙動、(数字: 水相および底質における存在割合と水相の 1 時間後 24 時間後の値, (a)田宮川, (b)冷田川)

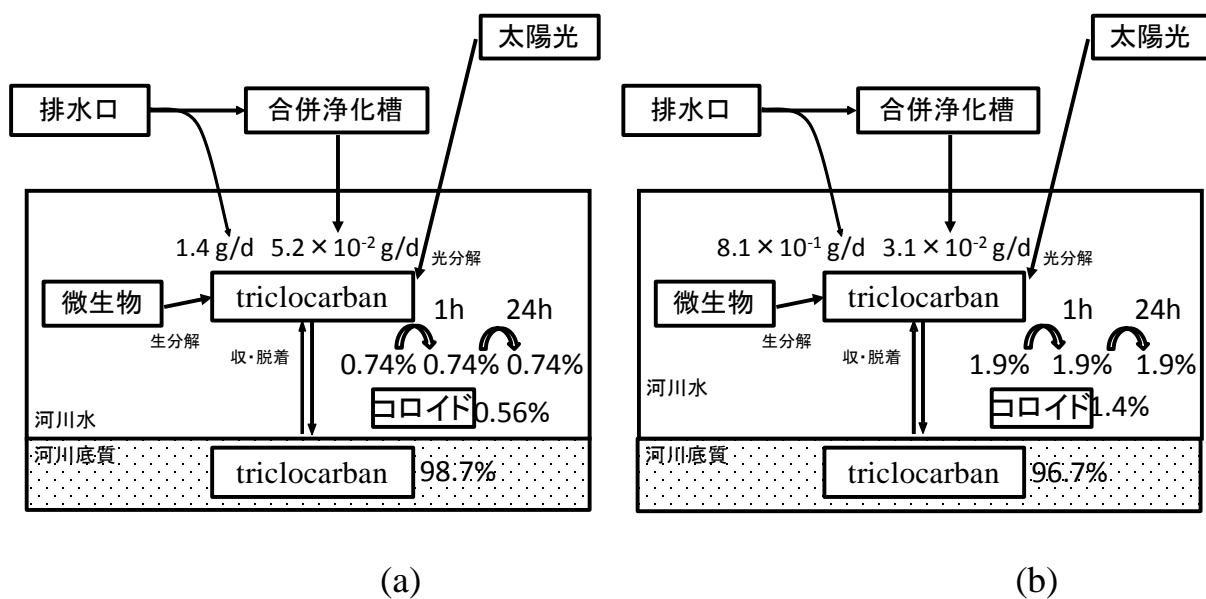


Figure 5.2 triclocarban が排水口から水環境中に放流された際に推測される挙動，（数字: 水相および底質における存在割合と水相の 1 時間後 24 時間後の値, (a)田宮川, (b)冷田川)

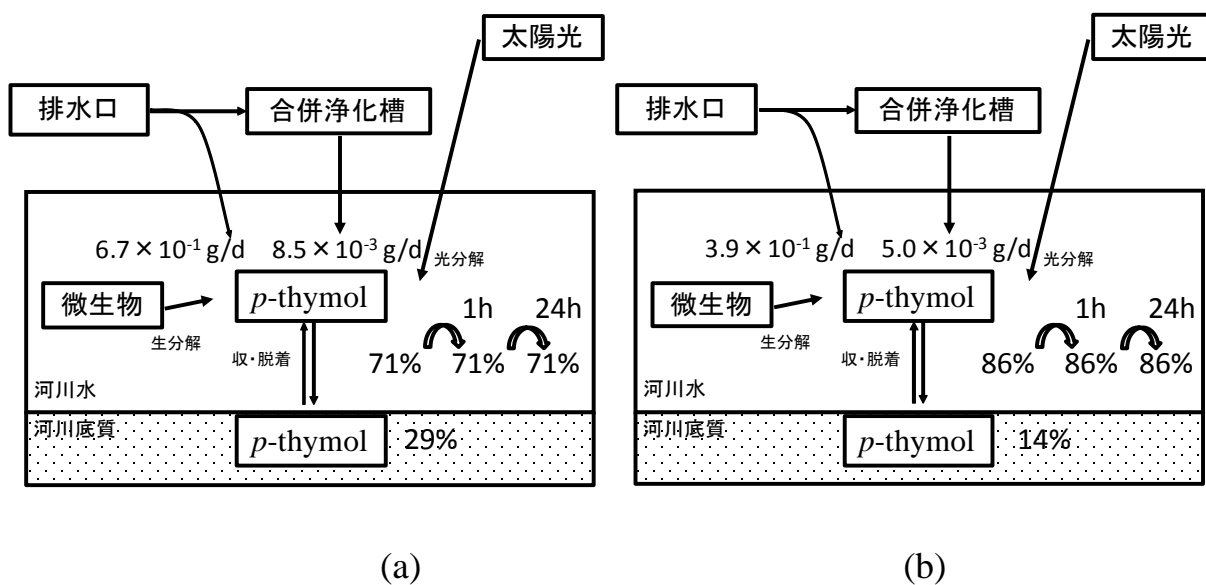


Figure 5.3 *p*-thymol が排水口から水環境中に放流された際に推測される挙動，（数字: 水相および底質における存在割合と水相の 1 時間後 24 時間後の値, (a)田宮川, (b)冷田川)

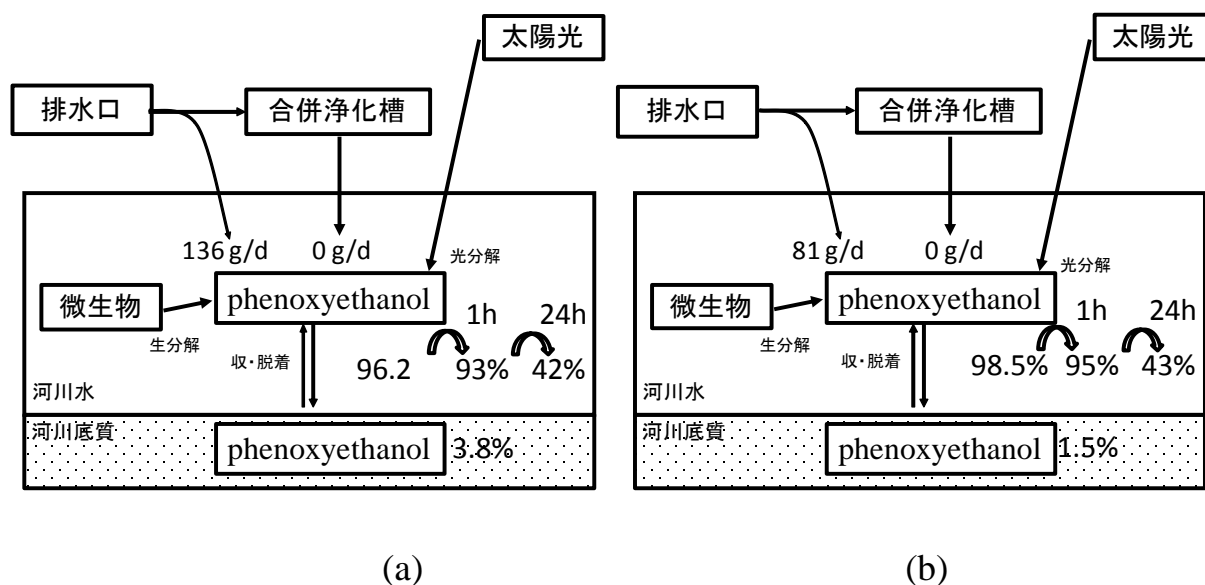


Figure 5.4 phenoxyethanol が排水口から水環境中に放流された際に推測される挙動，  
 (数字: 水相および底質における存在割合と水相の 1 時間後 24 時間後の値, (a)田宮  
 川, (b)冷田川)

残留性については、24 時間後までには triclosan の残存量は田宮川で未処理排水の 0.0%，triclocarban は水中に 0.74%，懸濁態に 0.56%，*p*-thymol は 71%，phenoxyethanol は 42%，冷田川では triclosan は未処理排水の 0.0%，triclocarban は水中に 1.9%，懸濁態に 1.4%，*p*-thymol は 86%，phenoxyethanol は 43%まで減少する。この推定では、triclosan の減少速度が大きい，これは主に光分解によるもので、実際に河川水への透過光は懸濁物質の影響によって弱まること，夜間や暗渠に加えて昼間でも雲の影響などを受けるために光分解速度を過大に評価している可能性が高い。

phenoxyethanol はおもに生分解によって分解されやすく，triclosan，triclocarban は底

質に移行されやすく、*p*-thymol は水中に残留しやすい傾向があることを定量的に示すことができた。しかし、phenoxyethanol は分解性が高いものの下水道未整備地域の河川中から高濃度で検出されており<sup>45)</sup>、先に示したように分解分を上回る負荷が継続的に流入している可能性が高い。triclocarban については、生分解試験でコロイドへの吸着が示唆されたが、triclosan や *p*-thymol と同様に田宮川や冷田川のような都市部の中小河川を想定した場合、コロイドによる吸着で水中濃度は減少するものの、河川水中に残留した状態で河口まで到達すると推定される。また、triclosan と triclocarban の 2 物質については、底質中に蓄積されやすく、雨天時の未処理の下水が流れ込む東京湾では最大でそれぞれ 1,700 と 3,000 ng/g<sup>15)</sup>、下水道整備が遅れている中国南部の珠江デルタでは最大それぞれ 1,300 と 2,600 ng/g<sup>60)</sup>という高濃度で検出されている。なお、底質への収着が瞬間的に起こらないことや、光分解が過大評価されていることなどを改善するためには、既法<sup>24)</sup>のようにより精緻なモデル作成が必要といえるが、これら 4 種の防菌・防カビ剤の挙動の特徴については、本研究の推定で十分に把握することができた。

## 5.2 全毒性に対する防菌・防カビ剤の毒性の寄与

### 5.2.1 寄与推定

まず、第 3 章および第 4 章と同様に、環境中濃度(MEC)を個別物質の毒性試験結果

から算出した最大無影響濃度( $\text{NOEC}_{\text{chem}}$ )で除したハザード比(HQ)を算出した。

$$\text{HQ} = \text{MEC} / \text{NOEC}_{\text{chem}} \quad (5.8)$$

また、河川水<sup>66)</sup>もしくは河川底質の毒性試験結果から最大無影響濃度( $\text{NOEC}_{\text{water}}$ もしくは $\text{NOEC}_{\text{sed}}$ )を算出し、その逆数をとって毒性単位(TU)とした。TUは河川水もしくは底質をNOECまで希釈するのに必要な希釈倍率を表している。

$$\text{TU} = 100 / \text{NOEC}_{\text{water}} \quad \text{or} \quad 100 / \text{NOEC}_{\text{sed}} \quad (5.9)$$

ここで、毒性に寄与する物質が1物質の場合、HQはTUと等しくなる。しかし、実際には複数の物質が毒性に寄与するが、各物質が同様の作用機序で影響し、毒性作用が濃度に比例し、相加的であると仮定した場合、毒性に関与する全ての物質のHQを足し合わせるとTUと等しくなる。

$$\text{TU} = \sum \text{HQ}_i \quad (5.10)$$

ここで、 $\text{HQ}_i$ は物質*i*のハザード比を指す。そのため、個別の防菌・防カビ剤の毒性

の全毒性に対する寄与率は，HQ を TU で除して推定できる。

$$\text{寄与率(\%)} = \text{HQ}_j / \text{TU} \times 100 \quad (5.11)$$

なお，ここで， $\text{HQ}_j$ は防菌・防カビ剤jのハザード比を指す。

寄与率推定に用いた河川および河川底質の TU を Table 5.3 に示す。

Table 5.3 河川水および河川底質の毒性単位(TU)

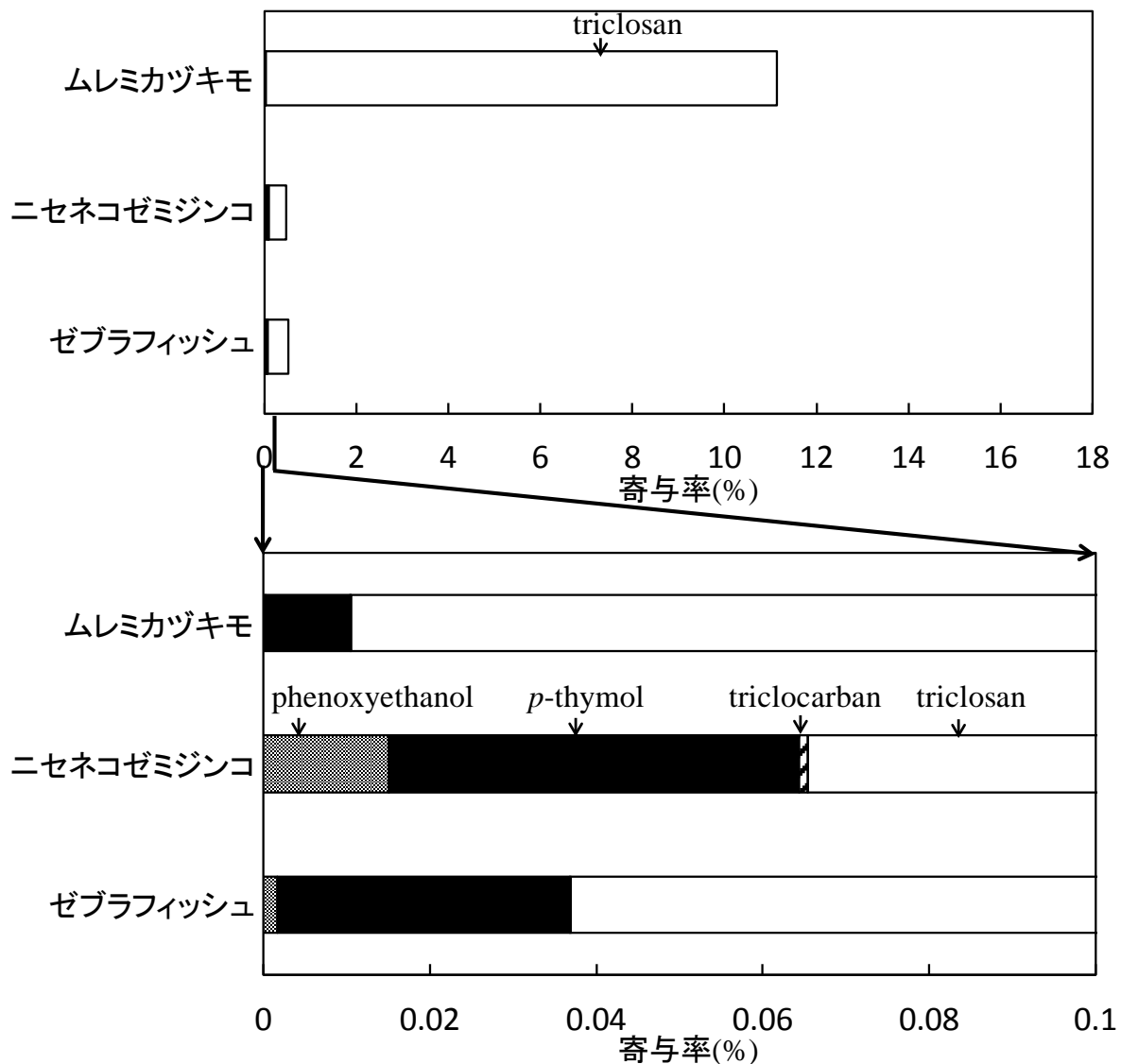
		採取河川	田宮川		冷田川	
		実施 年・月	Dec. 2011	Jul.2012	Dec. 2011	Jul.2012
試料	供試生物					
河川水	ムレミカツキモ		2.1	≤1	2.1	≤1
	ニセネコゼ ミジンコ		≤1	4	2	≤1
	ゼブラフィッシュ		≤1	4	≤1	≤1
底質	セスジユスリカ		2.3	1.5	1.5	2.3

### 5.2.2 寄与推定結果

河川水の全毒性に対する triclosan, triclocarban の寄与については，徳島市田宮川および冷田川について当研究グループの安田らとともに報告<sup>66)</sup>している。その結果を防

菌・防カビ剤4種に着目して作図し直すと、Figure 5.5 および 5.6 のようになる。田宮川や冷田川などで triclosan の全毒性への寄与はゼブラフィッシュの毒性をもとに算出した結果で  $8.9 \times 10^{-2} \sim 4.7 \times 10^{-1} \%$ 、ニセネコゼミジンコで  $7.7 \times 10^{-2} \sim 4.1 \times 10^{-1} \%$ 、ムレミカヅキモで 4.3~17.5%と緑藻に対する毒性に大きく寄与していると報告している。

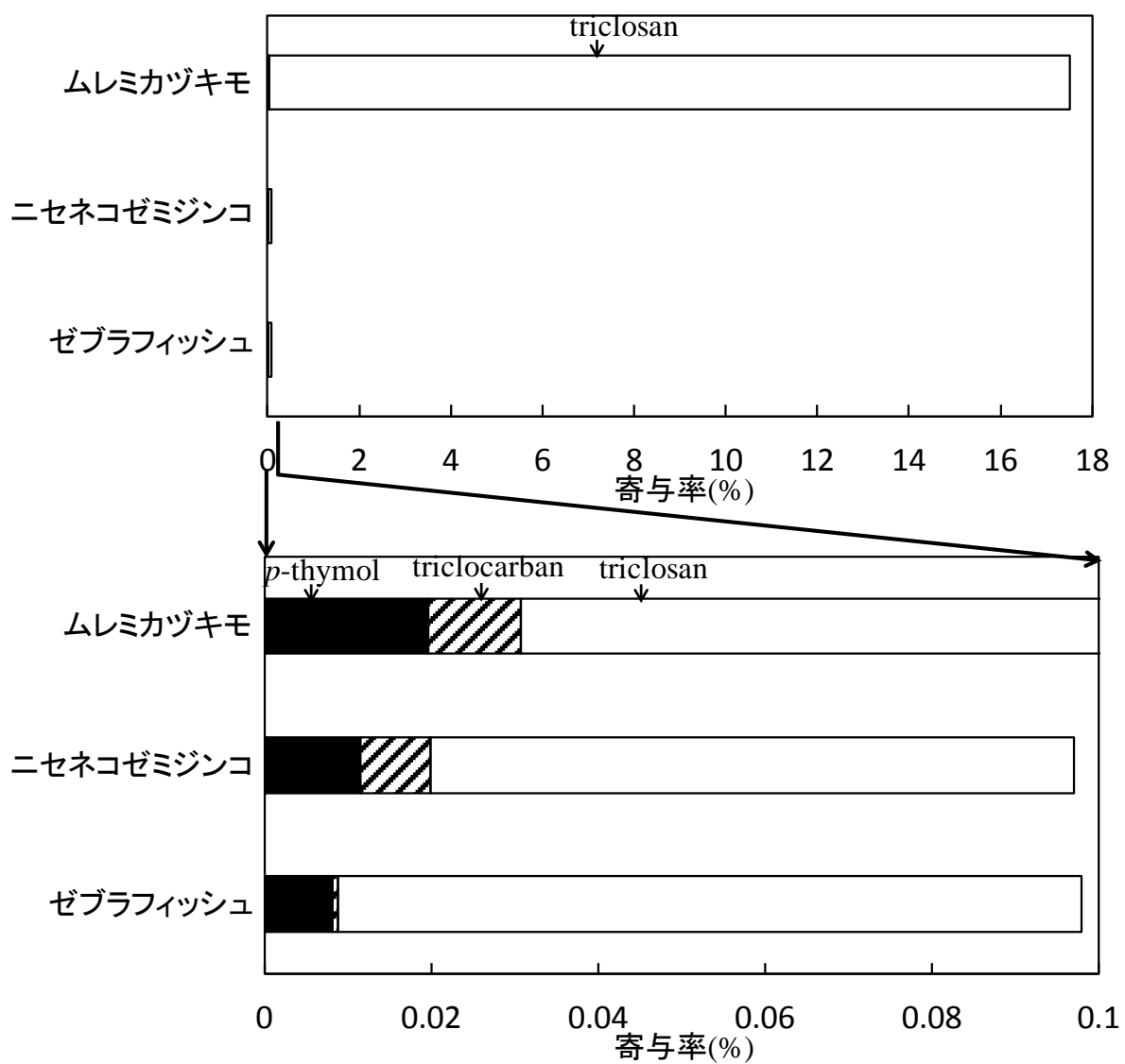
また、triclocarban は検出限界が高く十分に測定できないため、検出されない場合もあった。仮に検出限界の 1/2 として寄与率を計算すると、ゼブラフィッシュの毒性をもとに算出した結果で  $2.1 \times 10^{-5} \sim 6.6 \times 10^{-4} \%$ 、ニセネコゼミジンコで  $2.6 \times 10^{-4} \sim 8.4 \times 10^{-3} \%$ 、ムレミカヅキモで  $8.7 \times 10^{-5} \sim 1.1 \times 10^{-2} \%$ と triclosan と比較して寄与は少ないこと、3種の中ではミジンコに対する毒性に最も寄与していることがわかっている。一方、triclosan 以外の物質についての寄与がわかるように 0.1%以下を拡大した Figure 5.5 の下側の図からも明らかなように、*p*-thymol の寄与がある程度確認され、ニセネコゼミジンコで  $6.6 \times 10^{-3} \sim 4.9 \times 10^{-2} \%$ 、ゼブラフィッシュで  $6.4 \times 10^{-3} \sim 3.5 \times 10^{-2} \%$ であったが、triclosan に比べると極端に少なかった。濃度レベルは高いものの、水生生物3種の慢性毒性への phenoxyethanol の寄与はそれほど大きくないことがわかった。



(a)

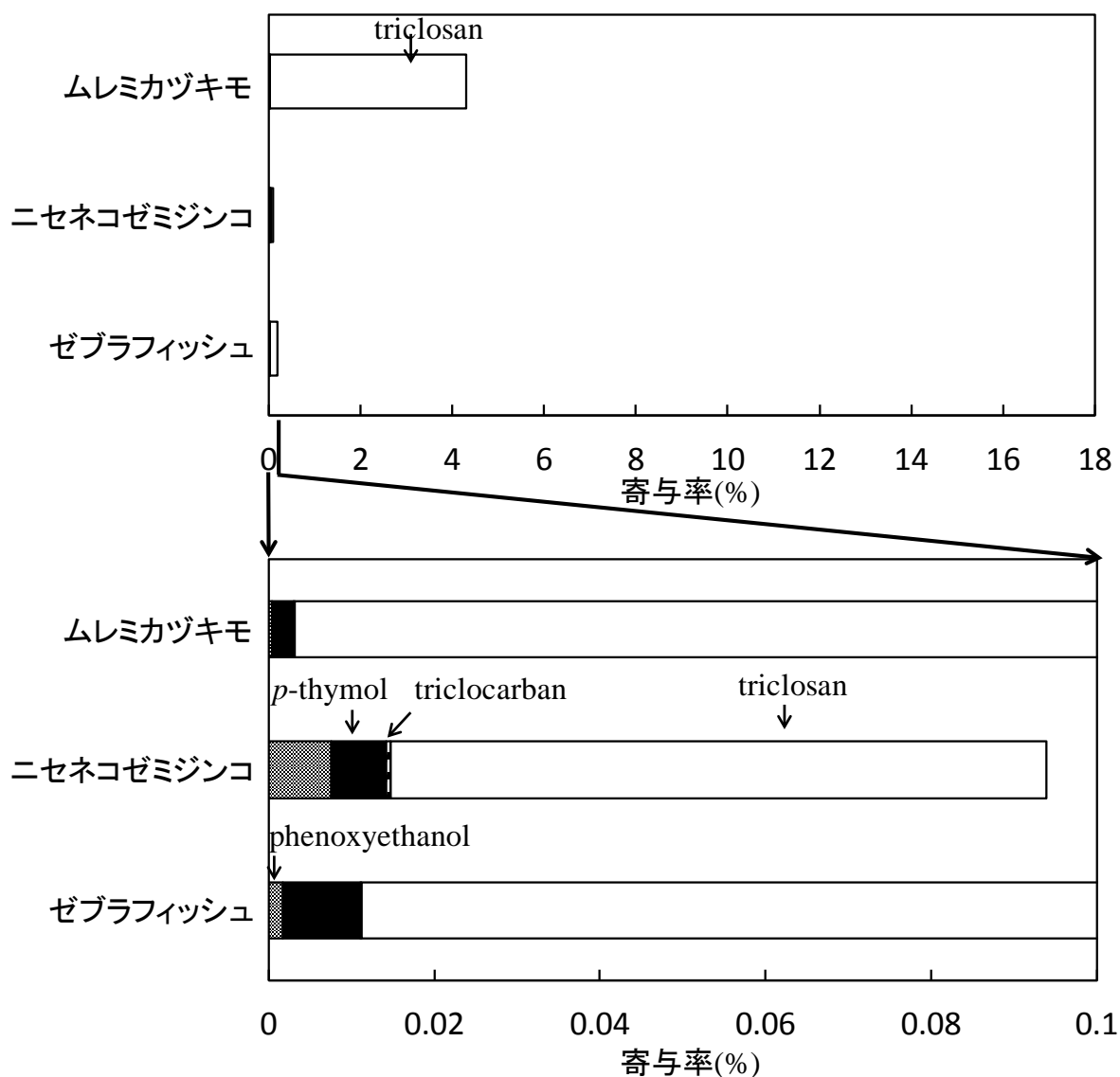
Figure 5.5 田宮川河川水の水生生物3種（ムレミカツキモ，ニセネコゼミジンコ，ゼブラフィッシュ）に対する慢性・亜慢性の全毒性への4種の防菌・防カビ剤の寄与率 ((a) 2011年12月, (b) 2012年7月), 上: 4種の積算図, 下: triclosan 以外の物質の寄与が明らかでないため, 0.1%以下を拡大した図 (□: triclosan, ▨: triclocarban, ■: *p*-thymol, ▩: phenoxyethanol)





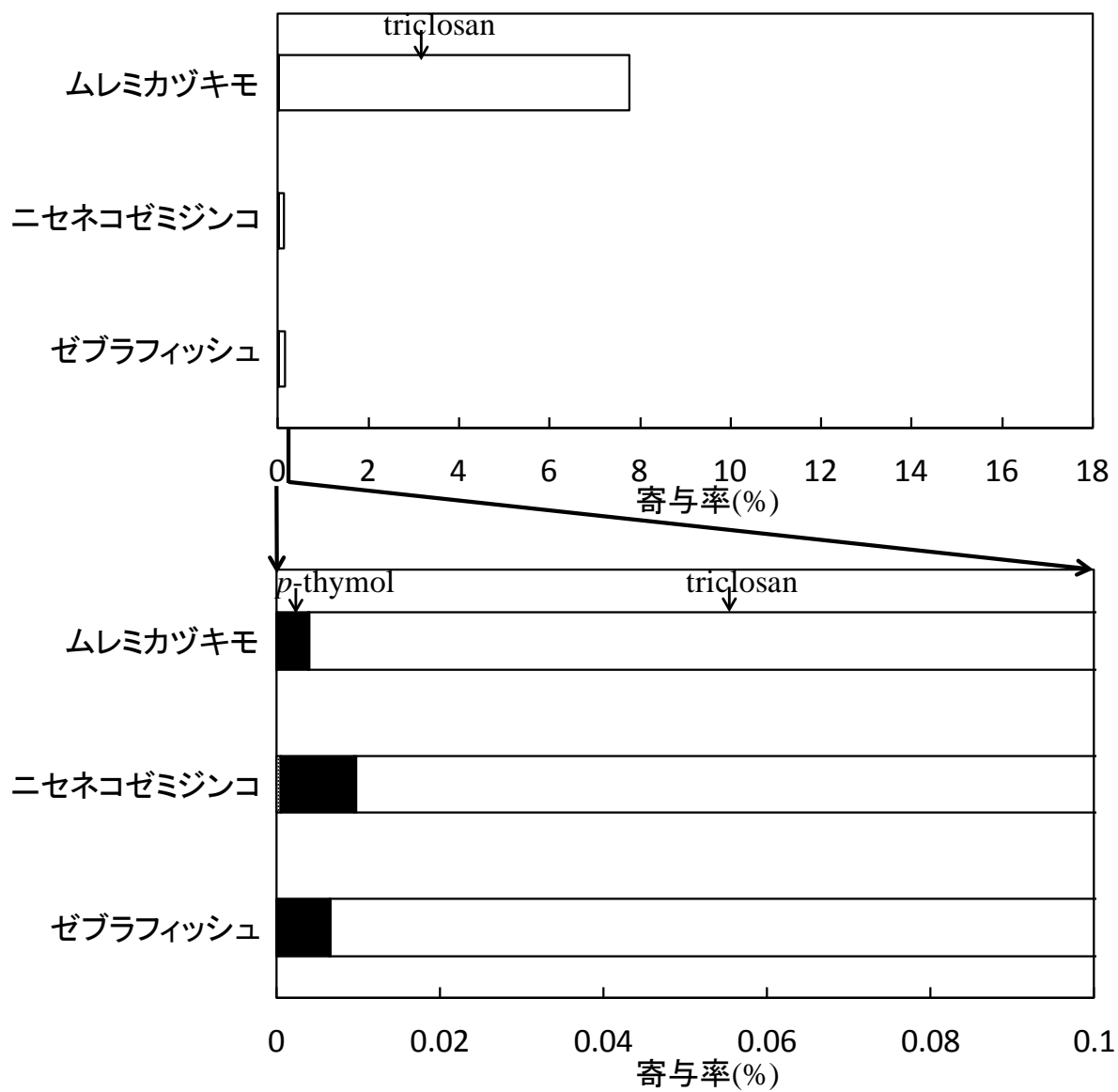
(b)

Figure 5.5 (続き)



(a)

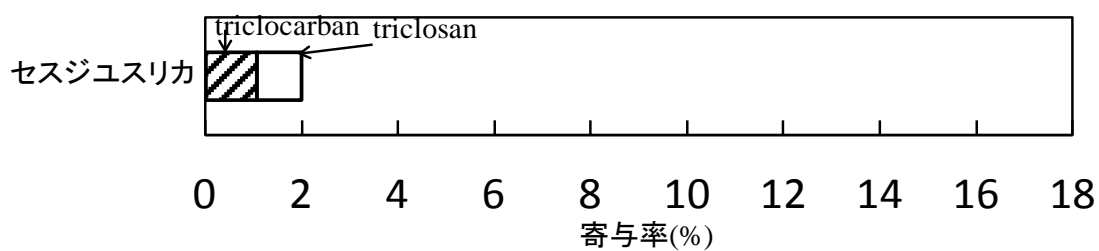
Figure 5.6 冷田川河川水の水生生物3種（ムレミカツキモ，ニセネコゼミジンコ，ゼブラフィッシュ）に対する慢性・亜慢性の全毒性への4種の防菌・防カビ剤の寄与率 ((a) 2011年12月，(b) 2012年7月)，上: 4種の積算図，下: triclosan以外の物質の寄与が明らかでないため，0.1%以下を拡大した図（□: triclosan，▨: triclocarban，■: p-thymol，▩: phenoxyethanol）



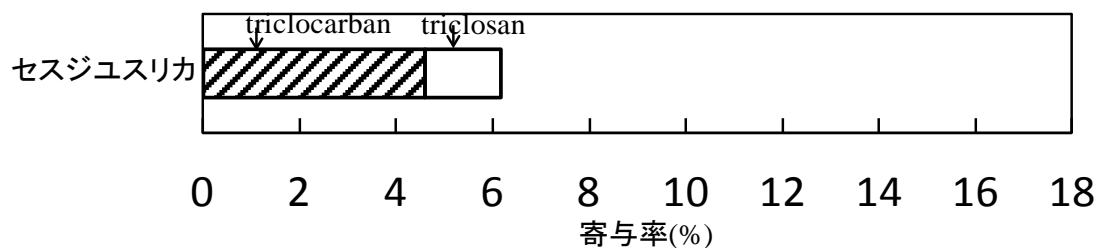
(b)

Figure 5.6 (続き)

一方、徳島市の田宮川、冷田川について河川底質中の全毒性に対する防菌・防カビ剤の寄与について表した図を Figure 5.7 および 5.8 に示す。なお、ここで、triclosan および triclocarban 以外の 2 種 (*p*-thymol, phenoxyethanol) の底質中濃度は検出限界未満であり、寄与は無視できるほど小さいと推定される。寄与率は triclosan が 0.6~1.6%, triclocarban が 1.1~4.6% で triclocarban の寄与がより大きかった。これは triclocarban のほうが底質へ収着しやすく、底生生物への毒性が高いという結果と一致している。底質の結果を見る限りでは、化審法の改正前に第三種監視化学物質に指定されていた triclosan に加え、triclocarban についても、底生生物保全のためには追加的な規制・管理を実施していくことが強く推奨される。このように triclosan, triclocarban に関しては藻類に加え底生生物の毒性への寄与率は比較的高いが、*p*-thymol, phenoxyethanol に関しては現時点では問題になるレベルではないことがわかるなど、実際の河川水や底質での水生生物や底生生物に対するリスクのレベルが明らかになった。

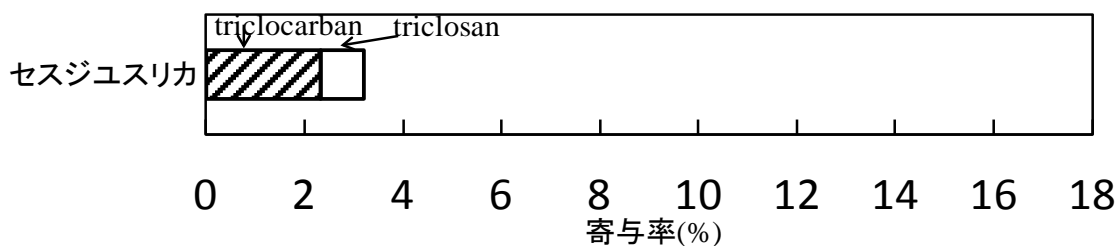


(a)



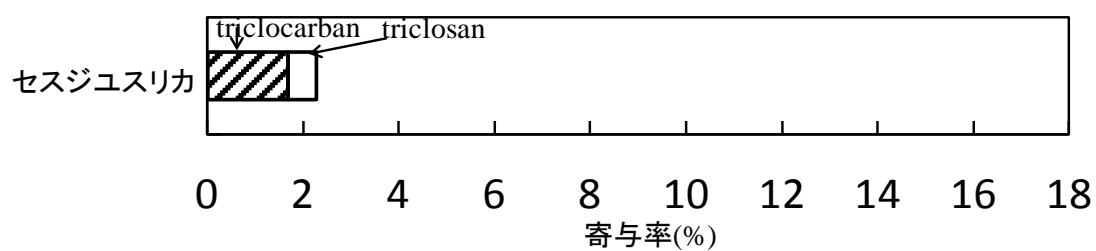
(b)

Figure 5.7 田宮川で採取した河川底質のセスジユスリカに対する全毒性への防菌・防カビ剤の寄与率 ((a)2011 年 12 月, (b)2012 年 7 月), (□: triclosan, ▨: triclocarban) (*p*-thymol, phenoxyethanol は検出限界未満で寄与率は無視できるレベル)



(a)

Figure 5.8 冷田川で採取した河川底質のセスジユスリカに対する全毒性への防菌・防カビ剤の寄与率 ((a)2011 年 12 月, (b)2012 年 7 月), (□: triclosan, ▨: triclocarban) (*p*-thymol, phenoxyethanol は検出限界未満で寄与率は無視できるレベル)

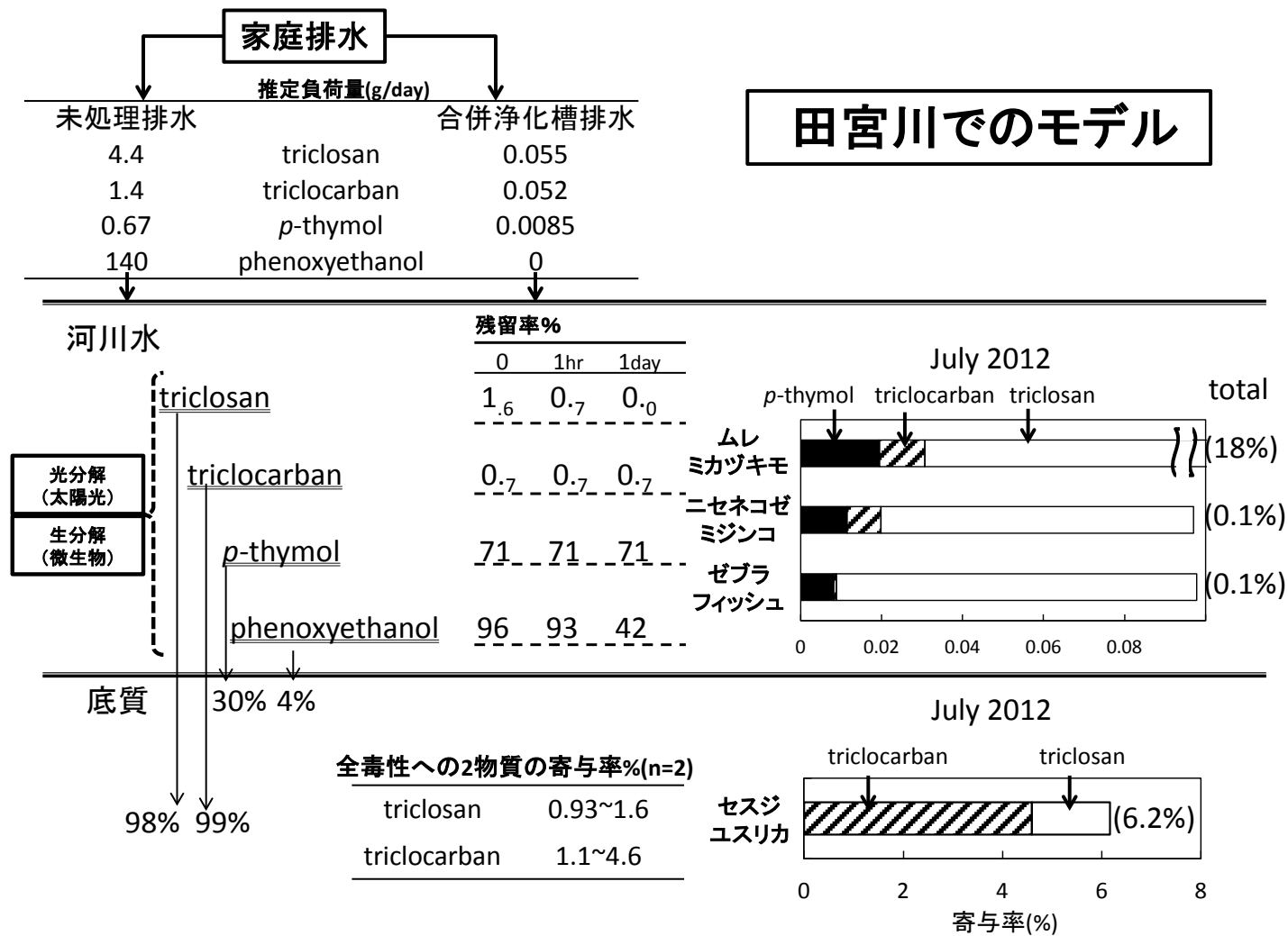


(b)

Figure 5.8 (続き)

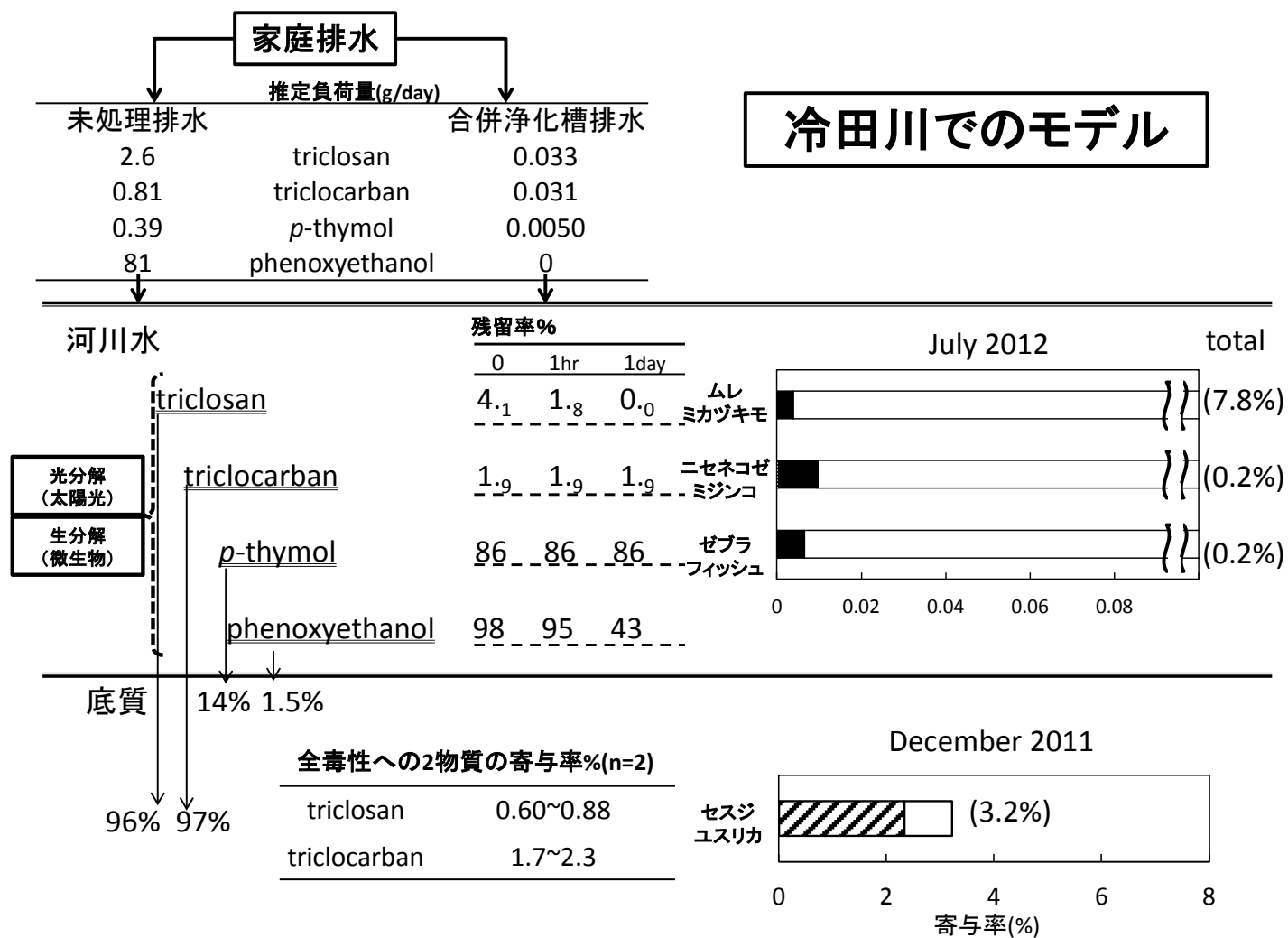
### 5.3 防菌・防カビ剤 4 種の環境中動態と毒性影響の全体図

以上の 5.1 および 5.2 の内容をまとめると Figure 5.9 のように 1 つの大きな全体図を作成することができる。田宮川，冷田川ともに，生態リスクが懸念されている防菌・防カビ剤の環境中動態と毒性影響が明らかになった。



(a)

Figure 5.9 防菌・防カビ剤4種の環境中動態と毒性影響の全体図, (a)田宮川, (b)冷田川



(b)  
Figure 5.9 (続き)



## 5.4 本研究のまとめ

第2章では、防菌・防カビ剤の triclosan や triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanol の4物質が家庭雑排水を通して水環境中に排出された際の残留性や分配などの水環境中動態を実験室内で検討した。その結果、河川水中の微生物による分解に関しては phenoxyethanol の分解速度が非常に早く、triclocarban もある程度の濃度減少が観察されたがその速度は遅いことがわかった。triclosan と *p*-thymol の生分解速度は非常に遅く、実験期間(144 時間)中にはほとんど分解しないことが明らかになった。一方、太陽光による分解性については、既報と同様に triclosan の分解速度は半減期が1時間弱と非常に速いが、その他の3物質の分解は都市河川の流下時間に比べると遅いことがわかった。河川底質への収着については、triclosan と triclocarban の2物質については、比較的高い  $\log K_{ow}$ (5 程度)の影響による疎水性相互作用の影響が強いと考えられ、収着係数  $K_D$ は有機物含量の高い都市河川底質では 500 L/kg を上回っており、砂質の河川底質でも 30 L/kg を上回っていて、底質への蓄積が示唆された。一方、*p*-thymol の疎水性は中程度で一定の疎水性相互作用の関与が考えられ、収着係数が1を上回っていたが、親水性の phenoxyethanol の収着係数は1を大きく下回っており、水相中に留まっている可能性が強いことが明らかになった。

第3章では、triclosan, triclocarban, *p*-thymol, phenoxyethanol の4種の防菌・防カビ剤については水生生物3種(藻類, ミジンコ, 魚類)の急性毒性試験と慢性毒性試験

を実施した。その結果、藻類(ムレミカツキモ)については triclosan の毒性がもっとも強く、72 時間の半数影響濃度(72 h-EC<sub>50</sub>)が 5.1 µg/L と非常に低い濃度であり、慢性値と見なされる最大無影響濃度(NOEC)が 0.53 µg/L であった。ミジンコに対して最も毒性が強く観察されたのは triclocarban であり、オオミジンコの 48 時間の EC<sub>50</sub>は 10 µg/L、ニセネコゼミジンコの 8 d-NOEC は 1.9 µg/L であった。魚類に対しては、triclocarban と triclosan のゼブラフィッシュの致死や仔魚致死の 9 d-NOEC はそれぞれ 26 と 24 µg/L であった。また、phenoxyethanol は、ミジンコに対する毒性が他の藻類・魚類よりも 1~3 オーダー程度と特異的に強かった。環境中濃度についての情報については、triclosan や triclocarban はモニタリングに関する報告例が多くあった。そのうち、木村らが、徳島市田宮川および冷田川で測定した値は、かなり高いレベルにあることがわかったほか、*p*-thymol や phenoxyethanol に関する値は、これまで国内外での報告例がない貴重なものであった。環境中濃度(MEC)測定の文献値と毒性値とを合わせて生態リスク評価を実施したところ、triclosan の藻類の慢性毒性値と triclocarban のミジンコの慢性毒性値のみ、ハザード比(MEC/NOEC)が 1 を超えた。中国のホットスポットや下水管からの漏洩がある地点といった比較的高濃度値などを利用した場合は、かなり大きな値になったが、徳島市田宮川や冷田川のデータを利用して場合も、ハザード比は 0.1~1 の範囲となった。しかし、他の *p*-thymol, phenoxyethanol については、ハザード比が 0.01 を超えるケースは確認されなかった。このことから、本研究で選定した

防菌・防カビ剤については、これらの triclosan や triclocarban の 2 物質の生態リスクが懸念すべき大きな問題であることが示唆された。

第 4 章では、同時に採取した河川底質の化学分析とユスリカを用いた毒性試験、実験室内での防菌・防カビ剤の毒性試験を組み合わせ、これらの物質のユスリカへの有害影響の程度を調べる方法を体系化することができた。まず, triclosan と triclocarban のセスジユスリカに対する毒性試験を底質添加の方法で実施して、最大無影響濃度 (NOEC) を算出した。その結果、NOEC は triclosan が 5.0 mg/kg, triclocarban が 2.5 mg/kg と triclocarban の方がやや毒性が強いことがわかった。また、徳島市近郊の田宮川および冷田川において底質を採取して底質中の triclosan, triclocarban の濃度測定を実施したところ、50~120 ng/g の濃度で検出された。この濃度を triclosan や triclocarban の NOEC と比較してハザード比を算出したところ、0.01~0.1 の範囲内であった。最後に、同じ河川底質について、ユスリカを用いて毒性試験を実施したところ、NOEC は 44~67% になるなど、毒性影響が検出された。

第 5 章では、第 2 章から第 4 章までの実験結果で得られた知見を利用し、防菌・防カビ剤が家庭で使用・廃棄された際の未処理の排水中濃度の推定、その未処理の排水中に含まれる成分の底質への移行性や水相中での残留性、さらには河川水や河川底質の全毒性に対する防菌・防カビ剤の寄与率について、下水道未整備地域を流れる徳島市冷田川や田宮川のケースを例にとって推定・評価を行った。その結果として、未処

理の排水中の推定濃度は、その希釈や日間変動などから誤差も見られたが、環境中からの検出濃度の最大値とほぼ同程度になり、特に *phenoxyethanol* が数十  $\mu\text{g/L}$  という高濃度で検出される可能性があることがわかった。一方、*triclosan* や *triclocarban* の 2 物質の底質への移行性はかなり高い一方で、*p*-thymol がかなり長時間の間、水相中に比較的高濃度で残存する危険性も示唆された。*phenoxyethanol* については、分解性は高いものの底質への移行がないことや、追加的負荷が多いことによって、高濃度で検出される可能性があることが示唆された。河川水の全毒性については、徳島市の田宮川・冷田川において、特に藻類の毒性に対する *triclosan* の寄与率が最大で 10% を超える可能性があることが示唆された一方で、*p*-thymol や *phenoxyethanol* などの防菌・防カビ剤の水生生物 3 種の全毒性に対する寄与は 0.1% 未満でそれほど大きくないと考えられる。一方で、河川底質については、*triclosan* が最大で 1.6% の寄与がある一方で、*triclocarban* の寄与はそれよりも大きい最大 4.6% になることがわかった。

## 第6章 結論

本研究で得られた結論を地域科学の観点から以下にまとめる。日常生活の中で防菌・防カビ剤は多種多様な物質が大量に使用されており、博士後期課程のカリキュラムの中で実施したプロジェクト研究Ⅱでは、大学生協食堂の衛生管理の点において防菌・防カビ剤の使用の重要性が示唆され、食品衛生の観点からもこれらの物質は必須となっている<sup>67)</sup>。ハンドソープや消毒液、化粧品などの多くは使用後に下水中に流され、一般的には下水処理施設や浄化槽等で除去される。しかし、徳島県内は下水道整備率が低く、合併浄化槽を設置していない単独浄化槽もしくは尿汲み取りの約4割の家庭では未処理の生活排水が河川に流れ込む。本研究で対象とした *phenoxyethanol* などは、消費量や配合量などから推定した未処理の生活排水中の濃度が最大で 94  $\mu\text{g/L}$  という高濃度になり、徳島地域の田宮川や冷田川のようなホットスポットでの汚染を引き起こす可能性が高い。*phenoxyethanol* は河川中での生分解性が比較的高く、田宮川や冷田川などの河川水中では 24 時間後には約 40% まで低減することが推定されたが、実際には未処理の生活排水が下流に向かって断続的に流れ込むため、数  $\mu\text{g/L}$  程度の濃度で存在する可能性がある。しかし、この物質については、水生生物に対する有害性が低く、底質への収着の影響も小さいため、現時点では田宮川や冷田川などで有害影響を及ぼす可能性は低い。一方で、*triclosan* は太陽光による光分解性は高く両河川中では 1 時間後には 1% 未満まで低減することが予測される。しかしながら、

実際には断続的な排水の流入があり，試験水生生物に対する毒性が非常に強いことから，田宮川や冷田川の河川水中で有害影響を及ぼす可能性があることが明らかになった。また，triclocarban は光分解性・生分解性が低く，毒性も強いので，triclosan と同様に有害影響を及ぼす可能性があることが示唆された。これらの物質は下水処理場での除去率が比較的高く，下水道や浄化槽の設置により負荷量を大きく低減できることが推測されるため，こういった下水道未整備地域ではまず，下水道や合併浄化槽などの整備の促進をおこなうことが，防菌・防カビ剤の生態毒性の問題を解決できる手段である。

本研究で対象とした徳島市西部の田宮川の流域は，住宅地が広く分布するために流域人口が 11,000 人程度と多い。徳島市北部浄化センターの処理区域になっているが，現在は東部の田宮地区までのみ下水道建設が実施中であるに過ぎない。その後は，矢三，島田，庄町や鮎喰，名東といった加茂名地区にも公共下水道の整備が計画されている。しかし，この計画は昨今の国と地方の財政難から大幅に遅れており，整備にはこれから 10 年以上の年月がかかることが予想される。下水道未整備の流域では 4 割近くがまだし尿汲み取り，単独浄化槽であり，防菌・防カビ剤を含む生活排水が未処理のまま田宮川流域に流されているため，その検出濃度は国内外の下水道未整備地域と同様にかなり高い状態になっている。本研究の結果 triclosan や triclocarban の有害影響が懸念されるレベルにあることが明らかになった。下水道や浄化槽の整備による汚

濁負荷低減が有効な対策であることが示唆されるため、下水道整備に時間がかかる地域については、できるだけ早急に単独浄化槽やし尿汲み取りを合併浄化槽に切り替える必要がある。そのためには、徳島市が下水道未整備の地域の住民に補助している合併浄化槽 5 人槽で 33.2 万円（ほかに 6~7 人槽で 41.4 万円, 8~10 人槽で 54.8 万円, 11~50 人槽で 33.2 万円）<sup>68)</sup>をさらに充実するとともに、地域住民に対して切り替えの周知を進めていくことが有効である。この地域では、湧水源の袋井用水の美観を守る活動を行う「袋井を美しくする会」が平成 23 年に発足して、周辺の清掃活動のほか、底泥の除去などの活動を実施している。周辺住民との連携を深めて水質浄化をはかり、「ホタルが飛び交う中で、屋形船を浮かべる」という目標が実現できるようにさらなる積極的な活動が期待される。なお、この流域は鮎喰川の右岸に位置しており、源流部の名東地区において比較的清澄な鮎喰川から取水することで希釈をおこなうことも、一つの有効な手段であると考えられる。しかし、この鮎喰川は夏季になると国府地区での農業用の取水によって瀬切れが頻繁に確認されるため、生活排水による汚染が顕著な冬季には上流部で取水することがより有効な方法といえる。

もう一方の対象河川とした徳島市南部の冷田川は、八万地区の南部の新興住宅地を流れる河川で流域人口は 6,500 人にのぼる。この地区は、将来的にも下水道を整備される計画は全くなく、一部の生活排水は未処理のまま放流されており、田宮川ほどではないものの防菌・防カビ剤などの生活排水由来の物質の濃度が比較的高くなってい

る。そのため、triclosan については試験水生生物に対して有害影響を及ぼす恐れが示唆された。上記の田宮川の項で記述した単独浄化槽からの切り替えに加え、新規の合併浄化槽設置の補助金（5 人槽:で 11.4 万円，6~7 人槽で 14.2 万円，8~10 人槽で 18.1 万円，11~50 人槽で 11.4 万円）についても上乗せが必要である。特に，下水道整備計画がないことから，従来型の公共下水道ではなく，新興住宅地などでは 100 人規模の浄化槽や下水処理施設を活用して共同管理する方が維持管理の面でも効率的といえる。合併浄化槽については，年に 4 回の業者による点検が義務付けられているが，各人が業者に直接依頼するシステムであり，順守しない場合も罰則はない。十分に維持管理されていない場合は放流水の水質が大きく低下する。このような浄化槽による処理が将来にわたって中心となる地区では，三好市山城町で実施されているように各人ではなく自治体が業者に委託して維持管理を徹底する方法も選択肢の一つといえる。

また，冷田川は，上流で園瀬川から取水しており，比較的清澄な園瀬川の水は未処理の生活排水の希釈効果も生んでいる。しかし，農閑期である 10 月から 4 月にかけて取水が一部制限されている。冬季には，生分解や光分解が進みにくくインフルエンザ等の予防用に防菌・防カビ剤の消費量が多くなるため，汚染が顕著になると予測される。そのため農業用利水が減少するという問題はあるが，農閑期も継続して取水することによって，希釈効果に期待することも必要である。なお，冷田川についても，地元の八万地区の自治会や婦人会が中心になって「冷田川を美しくする会」を発足し，



水質測定や啓蒙活動を積極的に実施しているほか、徳島県県土整備部が「冷田川をあたたか川に」というポスターの掲示による地域住民の水質に対する啓蒙活動も実施されている。ただ、この際に下流部の繊維団地付近から河口堰までの止水部分でのごみや汚濁の問題が注目され、河口堰の常時開閉への要望に留まっている点が残念なところである。常時開放は一つの選択肢であり、潮の干満によって海水が流入して幾分の浄化は確認できるが、やはり汚濁負荷の低減や清澄な園瀬川からの取水による希釈との組み合わせが不可欠である。

下水道整備によって、活性汚泥による防菌・防カビ剤の吸着や生分解によって、放流水を通じての環境汚染や、水生生物への有害影響等を抑制することができる。その一方で、triclosan と triclocarban の 2 物質については疎水性が非常に高く、活性汚泥に吸着したまま下水処理場内で循環利用されている恐れもある。そのために、徳島県のような農業地域で余剰汚泥が農業利用される際には、その移動性や農作物への移行について考慮して十分に注意することも重要な問題となり得る。

次に、現在使用されている triclosan や triclocarban などの防菌・防カビ剤の有害影響を抑えるためには、より安全な代替品への切り替えが重要である。例えば、防腐剤のパラベン類は、その女性ホルモン作用や接触皮膚炎などの悪影響が懸念されることから、phenoxyethanol などのより安全な代替品に移行が進んできている。この phenoxyethanol はかなりの高濃度で検出されるが、本研究では比較的低毒性であって、

試験生物への有害影響は田宮川や冷田川でも問題ないレベルであることが明らかになった。本研究では、ハンドソープ等に含まれる *triclosan*, *triclocarban* についての試験生物への有害影響が、未処理の生活排水が流れ込む田宮川・冷田川などの河川で顕著になる可能性が指摘されたことから、地域レベルでの規制や自粛も有効な手段である。徳島市による「水都・とくしま」や徳島県による「環境首都とくしま」など地域施策の一環として、有害な防菌・防カビ剤の情報提供、より安全な *phenoxyethanol* などへの移行の必要性について環境教育を進めていくことが重要である。

最後に、本研究では、全国で下水道整備率が最も低い徳島県という地域の田宮川や冷田川などの都市河川をモデルとして、未処理の生活排水由来の防菌・防カビ剤等の動態や生態リスクを詳細に検討することで、その汚染実態の把握や有害影響評価の手法を体系化した。この手法は、全国の下水道未整備地域や新興国、発展途上国で現在顕在化している汚染の実態や環境への有害影響のモデルケースとして有効である。そのため、本研究で得られた知見は、日本の下水道・浄化槽未整備で生活排水が未処理で流れる地域をはじめ、アジア、ひいてはアフリカや南米等の地域にも適用可能である。徳島から世界に向けて、このような情報を継続的に発信していくことが重要であると考ええる。

## 参考文献

- 1) 環境省：水・土壌環境行政のあらまし，水環境行政の歴史  
([http://www.env.go.jp/water/water\\_pamph/pdf/24\\_m3.pdf](http://www.env.go.jp/water/water_pamph/pdf/24_m3.pdf)) (最終チェック日：2013年7月14日)
- 2) 徳島県：徳島県市町村別汚水処理人口普及状況(平成23年度末), (<http://www.pref.tokushima.jp/docs/2009082500277/files/h23osuishitousonitiran.pdf>) (最終チェック日：2013年2月17日)
- 3) UNEP: Clearing the Waters, A focus on water quality solutions, ([http://www.unep.org/PDF/Clearing\\_the\\_Waters.pdf](http://www.unep.org/PDF/Clearing_the_Waters.pdf)) (最終チェック日：2013年2月17日).
- 3A) 川上都香彩，山下尚之，中田典秀，田中宏明：「栄養段階が異なる水生生物を用いた医薬品及びに日用品由来化学物質の生態毒性評価」，*環境衛生工学研究*，24(3), 132-135, (2010).
- 4) NITE: 化学物質総合情報提供システム, Chemical Risk Information Platform (CHRIP)
- 5) Syracuse Research Corporation (SRC) Interactive PhysProp Database (<http://www.syrres.com/what-we-do/databaseforms.aspx?id=386>) (最終チェック日：2013年2月17日)
- 6) 米国環境保護局, Estimation Program Interface (EPI) Suite (<http://www.epa.gov/opptintr/exposure/pubs/episuite.htm>) (最終チェック日：2013年2月17日)
- 7) 小森行也，鈴木穰：「生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態と生態リスク初期評価」，*水環境学会誌*，32, 133-138, (2009).
- 8) Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J., Capdevielle, M., Rothenstein, A., Cunningham, V.: Aquatic toxicity of triclosan, *Environ. Toxicol. Chem.*, **21**, 1338-1349, (2002).
- 9) Tatarazako, N., Ishibashi, H., Teshima, K., Kishi, K., Arizono, K.: Effects of triclosan on various aquatic organisms, *Environ. Sci.*, **11** 133-140, (2003).
- 10) Cherednichenko, G., Zhang, R., Bannister, R.A., Timofeyev, V., Li, N., Fritsch, E.B., Feng, W., Cherednichenko, G.C., Schebb, N.H., Hammock, B.D., Beam, K.G., Chiamvimonvat, N., Pessah, L.N.: Triclosan impairs excitation-contraction coupling and  $\text{Ca}^{2+}$  dynamics in striated muscle. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **109**, 35, 14158-14163, (2012).

- 11) The TCC Consortium: High Production Volume (HPV) Chemical Challenge Program Data Availability and Screening Level Assessment for Triclocarban CAS#: 101-20-2, Report 201-14186A (2002).
- 12) Singer, H., Müller, S., Tixier, C., Pillonel, L., Mu, S.: Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 23, 4998-5004. (2002).
- 13) Morales, S., Canosa, P., Rodriguez, I., Rubi, E., Cela, R.: Microwave assisted extraction followed by gas chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of triclosan and two related chlorophenols in sludge and sediments, *J. Chromatogr. A*, 1082, 128–135. (2005).
- 14) Miller, T.R., Heidler, J., Chillrud, S.N., Delaquil, A., Richie, J.C., Mihalic, J.N., Bopp, R., Halden, R. U.: Fate of triclosan and evidence for reductive dechlorination of Triclocarban in estuarine sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **42**, 4570–4576, (2008).
- 15) 高田秀重, 森本拓也:「東京湾におけるトリクロサン類の分布と動態」, 第20回環境化学討論会講演要旨集, (2011).
- 16) Dussault, E.V., Balakrishnan, V.K., Sverko, E., Solomon, K.R., Sibley, P.K.: Toxicity of human pharmaceuticals and personal care products to benthic invertebrates, *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**, 425-432, (2008).
- 17) Yamamoto, H., Tamura, I., Hirata, Y., Kato J., Kagota K., Katsuki S., Yamamoto A., Kagami, Y., Tatarazako N.: Aquatic toxicity and ecological risk assessment of seven parabens: individual and additive approach. *Sci Total Environ*, **410–411**, 102–11, (2011).
- 18) 徳島県: 平成 23 年度公共用水域および地下水の水質の状況についての測定結果, (<http://www.pref.tokushima.jp/docs/20122600172/files/54-61.pdf>) (最終チェック日: 2013 年 2 月 17 日) (2013).
- 19) 田村生弥, 太田美菜子, 関澤純, 山本裕史:「下水道未普及地域における河川生物膜による直

- 鎖アルキルベンゼンスルホン酸浄化作用の評価」, *環境工学研究論文集*, **44**, 127-134, (2007).
- 20) 山本裕史, 田村生弥, 太田美菜子, 関澤純, 葛西博文, 田中基博:「生態系支援コンクリートによる河川環境の修復—直鎖アルキルベンゼンスルホン酸を用いた浄化支援効果の評価」, *用水と廃水*, **49**, 913-918, (2007).
- 21) 香月翔太:「防腐剤パラベン類 7 種の水環境中濃度測定と残留性・分配に関する実験的検討」, 平成 20 年度徳島大学大学院人間・自然環境研究科修士論文, (2009).
- 22) Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., Tamura, I., Hirata, Y., Hayashi, A. Sekizawa, J.: Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments, *Wat. Res.*, **43**, 351-362, (2009).
- 23) OECD: Ready biodegradability, DOC die-away test, Guidelines for Testing Chemicals No. 301A, (1998).
- 24) 田村生弥, 新田和代, 平田佳子, 山本敦史, 関澤純, 山本裕史: 「下水道未整備地域を流れる小河川における生活関連物質の動態解明と濃度簡易予測モデルの構築, -徳島市冷田川を例として-」, *環境化学*, **20**, 339-349, (2010).
- 25) Yu, J.M., Bouwer, E.J. Coelhan, M.: Occurrence and biodegradability studies of selected pharmaceuticals and personal care products in sewage effluent, *Agr. Water Manag.*, **86**, 72-80, (2006).
- 26) U.S. EPA: Direct photolysis rate in water by sunlight, Fate, transport, and transformation test guidelines, OPPTS 835.2210, (1998)
- 27) Lindström, A., Buerge, I.J., Poiger, T., Bergqvist, P., Muller, M.D., Buser, H.: Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 2322-2329, (2002).
- 28) OECD: Adsorption-desorption using a batch equilibrium method, OECD guidelines for testing chemicals No. 106, (1995)

- 29) Yamamoto, H., Watanabe, M., Katsuki, S., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y. Sekizawa, J.: Preliminary ecological risk assessment of butylparaben and benzylparaben, 2. Fate and partitioning in aquatic environments, *Environ. Sci.*, **14**, 97-105, (2007).
- 30) Wick, A., Marincas, O., Moldovan, Z., Ternes, T. a. Sorption of biocides, triazine and phenylurea herbicides, and UV-filters onto secondary sludge, *Wat. Res.*, **45**(12), 3638–52. (2011).
- 31) Karickhoff, S.W., Brown, D.S., Scott, T. A.: Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments, *Wat. Res.*, **13**, 241-248, (1979).
- 32) OECD: Alga, growth test. OECD guidelines for testing of chemicals No. 201, (2006).
- 33) 吉岡義正, Ecotox-Statics ver.2.6d. Japan, *日本環境毒性学会誌*, **4**(2), 113, (2001)
- 34) OECD: *Daphnia* sp., acute immobilization test and reproduction test. OECD guidelines for testing of chemicals No. 202, (2004).
- 35) OECD: Fish, acute toxicity test. OECD guidelines for testing of chemicals No. 203, (1992).
- 36) OECD: *Daphnia magna* reproduction test. OECD guideline for testing of chemicals No. 211, (1998).
- 37) USEPA: Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms, Fourth Edition, EPA-821-R-02-013, Section 7, (2002).
- 38) 鑪迫典久, 山本裕史, 新野竜大: 「生物応答を用いた新たな排水評価・管理手法」, *環境浄化技術*, 11(1), 6-14, (2012).
- 39) Environment Canada: Second Edition Biological Test Method: Test of Reproduction and Survival Using the Cladoceran *Ceriodaphnia dubia*. EPS 1/RM/21, (2007).
- 40) OECD: Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-Day Study, OECD guidelines for testing of chemicals No. 204, (1984).
- 41) OECD: Fish, Early-Life Stage Toxicity Test, OECD guidelines for testing of chemicals No. 210, (1992).
- 42) OECD: Fish Short Term Reproduction Assay, OECD guidelines for testing of chemicals No. 229,

- (2009).
- 43) OECD: Fish, 21-day Fish Assay: A Short-Term Screening for Oestrogenic and Androgenic Activity, and Aromatase Inhibition, OECD guidelines for testing of chemicals No. 230, (2009).
  - 44) OECD: Fish, short-term toxicity test on embryo and sac-fry stages. OECD guidelines for testing of chemicals No. 212, (1998).
  - 45) 木村久美子, 亀田豊, 山本裕史, 中田典秀, 益永茂樹: 「化粧品に使用される防腐剤及び紫外線吸収剤の河川水中における存在実態調査」, 第20回環境化学討論会講演要旨集, (2011).
  - 46) 環境省: 「化学物質の環境リスク評価」, 第7巻, (2009).
  - 47) Brausch, J.M. and Rand, G.M.: A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity, *Chemosphere*, **82**, 1518-1532, (2011).
  - 48) OECD: Sediment-Water chironomid toxicity test using spiked water OECD guidelines for testing of chemicals No.219, (2004).
  - 49) OECD: Sediment-water chironomid toxicity test using spiked sediment OECD guidelines for testing of chemicals No.218, (2004).
  - 50) USEPA: Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates, (1994) (EPA 600/R-94/024)
  - 51) 日本環境毒性学会: 「生態影響試験ハンドブック」朝倉書店, (2004).
  - 52) USEPA: Ecological effects test guidelines OPPTS 850.1035. Whole sediment acute toxicity invertebrates. (EPA 712/C-96/354) (1996).
  - 53) Galluba, S., Oetken, M., Oehimann, J.: Comprehensive sediment toxicity assessment of Hessian surface waters using *Lumbriculus variegatus* and *Chironomus riparius*, *J. Environ. Sci. Health A*, **47**, 507-521, (2012).
  - 54) 市木敦之, 三浦陽介, 諏訪広樹: 「セスジスリカを用いた都市域ノンポイント汚染の生態リスク評価に関する基礎的研究」, 環境システム研究論文集, **35**, 417-424, (2007).

- 55) 高村良和, 市木敦之, 橋本直弥:「自動車交通由来の微量有害物質によるセスジユスリカの繁殖毒性に関する基礎的研究 (その 3) -高速道路塵埃中の PAHs に着目した検討-」, 第 46 回日本水環境学会年会講演集, 313, (2012).
- 56) Mehler, W.T., Maul, J.D., You, J., Lydy, M.J.: Identifying the causes of sediment-associated contamination in the Illinois River (USA) using a whole-sediment toxicity identification evaluation. *Environ. Toxicol. Chem.*, **29**(1), 158–67, (2010).
- 57) 渡部春奈, 中島典之, 春日郁朗, 古米弘明:「カイミジンコを用いたバイオアッセイによる都市河川底泥の毒性要因の推定」, 水環境学会誌, **31**, 11, 671-676, (2008).
- 58) 成宮正倫, 奥田隆, 中田典秀, 山下尚之, 田中宏明, 佐藤和志, 末岡峯数, 大岩俊雄:「下水処理過程における医薬品類の存在実態と挙動」, 環境工学論文集, **46**, 175-186, (2009).
- 59) Kameda, Y., Kimura, K., Miyazaki, M.: Occurrence and profiles of organic sunblocking agents in surface waters and sediments in Japanese rivers and lakes. *Environ. Pollut.* **159**, 1570–1576, (2011).
- 60) Zhao, J.L., Ying, G.G., Liu, Y.S., Chen, F., Yang, J.F. Wang, L.: Occurrence and risks of triclosan and triclocarban in the Pearl River system, South China: from source to the receiving environment, *J. Hazard. Mater.*, **179**, 215-222, (2010).
- 61) 厚生労働省, 平成 23 年度薬事工業生産動態統計年報(<http://www.mhlw.go.jp/topics/yakuji/2011/nenpo/index.html>), (2012).
- 62) 森謙一郎, 中村義昭, 大貫奈穂美, 寺島潔, 宮本道子:「化粧品中防腐剤の検査結果 (平成 16–18 年度) と検査法の改良」, 東京都健康安全研究センター研究年報, **58**, 103-106, (2008).
- 63) Liu, T., Wu, D.: High-performance liquid chromatographic determination of triclosan and triclocarban in cosmetic products. *Inter. J. Cosmet. Sci.*, **34**(5), 489–94, (2012).
- 64) Perencevich, E. N., Wong, M. T., Harris, A. D.: National and regional assessment of the antibacterial soap market: a step toward determining the impact of prevalent antibacterial soaps. *Am. jour. infect. cont.*, **29**(5), 281–3, (2001).



- 65) 厚生労働省, 化粧品配合基準, 平成 12 年 (<http://www.mhlw.go.jp/bunya/iyakuhin/keshouhin/dl/keshouhin-a.pdf>).
- 66) 安田侑右, 田村生弥, 駕田啓一郎, 米多佐織, 森田隼平, 中田典秀, 木村久美子, 亀田豊, 鑪迫典久, 山本裕史: 「水生生物 3 種の短期慢性毒性試験を用いた都市河川の生態毒性と生活関連物質の寄与の評価」, 第 46 回日本水環境学会年会講演要旨集, 96, (2012).
- 67) 徳島大学大学院総合科学教育部地域科学専攻博士後期課程  
平成 21 年度「プロジェクト研究Ⅱ」報告書
- 68) 徳島市: 合併処理浄化槽の補助制度について ([http://www.city.tokushima.jp/gesui\\_hozen/gaiyo06.html](http://www.city.tokushima.jp/gesui_hozen/gaiyo06.html)) (最終チェック日: 2013 年 7 月 14 日)

# Appendices

## Appendix A 反応次数の決定

反応速度から反応次数を得る方法には微分法と積分法がある。積分法は反応の速度式を仮定して実験結果が適合するかどうか判定する方法で整数の反応次数を有する反応に有効である。しかし、反応生成物など要因が関係する反応で真の反応次数が整数でない場合は、誤った反応次数を与える場合がある<sup>1)</sup>。そこで、濃度と反応速度を使用する微分法を使用した。反応が次数を有する場合速度と反応体の濃度は

$$v = kC^n \quad (\text{A.1})$$

となる<sup>2)</sup>。ここで、この式の  $v$  は反応速度、 $k$  が速度定数、 $C$  が濃度、 $n$  が反応次数を表し、両辺の対数をとると

$$\ln v = \ln k + n \ln C \quad (\text{A.2})$$

よって、さまざまな濃度における反応速度をもとめ、初期濃度と初速度との関係をプロットし、得られる直線の傾きから反応次数を決定した。

特に一次反応ではない濃度減少が認められた triclocarban について、反応濃度と反応初速度との関係を求めた結果を Figure A1 に示す。実験結果から推測される反応次数は約 1.3 次であり (Figure A.1)、一次反応的な要素と二次反応的な要素の複合的な反応といえる。

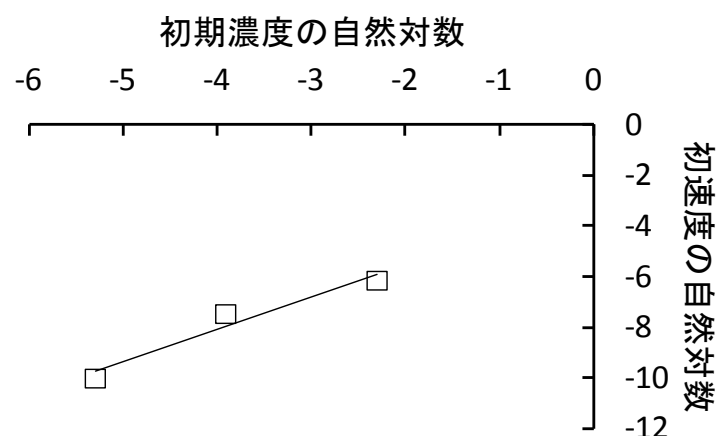


Figure A.1 triclocarban の初期濃度と初速度の関係( $y = 1.28x - 2.96$ ,  $R^2 = 0.95$ )

## 参考文献

- 1) 廣田鋼蔵, 荒井弘通, 土屋莊次, 大勝靖市, 浅羽鉄郎:「反応速度」, 共立出版株式会社, (1974)
- 2) キース・J・レイドラー著, 高石哲男訳:「化学反応速度論 I」-基礎理論・均一気相反応-, 産業図書, (1965)

## Appendix B 本研究で使⽤した防菌・防カビ剤の製造元, グレードおよび純度

Table B.1 本研究で使⽤した防菌・防カビ剤の製造元, グレードおよび純度

物質名	製造元	グレード	純度(%)
triclosan	Wako	抗菌抗カビ研究用	98
triclocarban	ALDRICH		99
<i>p</i> -thymol	Wako	和光特級	99.0+
phenoxyethanol	TCI		>98.5

## Appendix C HPLC を用いた分析条件とその精度・正確度の確認

本研究で防菌・防カビ剤の水中濃度の定量に使用した装置の構成を Table C.1 に示す。また、防菌・防カビ剤の測定条件を Table C.2 に示す

Table C.1 防菌・防カビ剤の濃度測定に使用した HPLC の構成

装置	型番	仕様	製造元
システムコントローラー	SCL-10A	-	Shimadzu
ポンプ	LC-10AD	流速 1.0 mL/min	Shimadzu
オートサンプラー	SIL-10AD	-	Shimadzu
ガードカラム	GV-ODS	10 mm×4.6 mm I.D.	Shimadzu
メインカラム	VP-ODS	150 mm×4.6 mm I.D.	Shimadzu
カラムオーブン	CTO-10AD	オーブン温度：40℃	Shimadzu
検出器	SPD-10A	紫外・可視光吸光検出器	Shimadzu

Table C.2 防菌・防カビ剤の HPLC 測定条件

物質名	triclosan	triclocarban	<i>p</i> -thymol	phenoxyethanol
移動相	水：メタノール =20：80	水：メタノール =20：80	水：メタノール =25：75	水：メタノール =58：42
吸収波長(nm)	279	270	280	270
検出限界(mg/L)	0.0087	0.0017	0.015	0.018

また、典型的なクロマトグラムと、典型的な河川水および生物飼育水における標準添加法での回収率について、それぞれ Figure C.1 と Table C. 3 にまとめる。



(a)

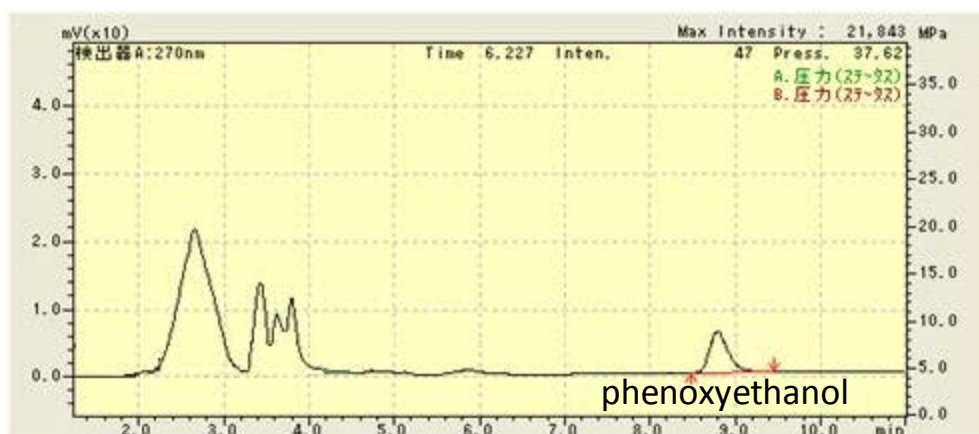
Figure C.1 HPLC 測定のコロマトグラム(a)triclsan, (b)triclocarban, (c)*p*-thymol, (d)phenoxyethanol



(b)



(c)



(d)

Figure C.1 (続き)

Table C.3 防菌・防カビ剤の HPLC 測定における回収率

物質名	triclosan	triclocarban	<i>p</i> -thymol	phenoxyethanol
河川水(%)	74±4.5	65±4.2	94±5.1	128±3.8
生物飼育水(%)	109±5.1	66±4.9	93±0.6	113±2.2

## Appendix D 全天日射量算出方法

アメダスで観測された日照時間  $N$  (h) から、全天日射量 (日平均)  $S_d$  を計算する方法は次式のように示される。

$$S_d/S_{d0} = 0.244 + 0.511(N/N_0) \quad 0 < N/N_0 \leq 1,$$

ここで  $S_{d0}$  は大気上端の水平面日射量 (日平均),  $N_0$  は可照時間,  $N$  は日射時間を表す。

大気上端の水平面日射量  $S_{d0}$  は次式によって計算する。

$$S_{d0} = I_{00}/\pi(d_0/d)^2(h \sin \varphi \sin \delta + \sin h \cos \varphi \cos \delta)$$

ここで  $I_{00}$  は太陽定数を表す。その他については以下の式で計算できる。

$$\text{日の出から南中までの時角} : h = \cos^{-1}(-\tan \varphi \tan \delta)$$

$$(d_0/d)^2 = 1.00011 + 0.034221 \cos \eta + 0.00128 \sin \eta + 0.000719 \cos 2\eta + 0.000077 \sin 2\eta$$

ここで  $\varphi$  は緯度,  $d$  と  $d_0$  は太陽・地球間の距離とその平均値を表す。

$$\text{太陽赤緯(rad)} : \delta = \sin^{-1}(0.398 \times \sin a_2)$$

太陽赤緯は以下の式で計算できる。

$$a_2 = 4.871 + \eta + 0.033 \sin \eta$$

さらに  $\eta$  は以下の式で算出する。

$$\eta = (2\pi/365) \times \text{DOY}$$

DOY は 1 月 1 日からの通算日数である。

可照時間  $N_0$  (h) は、次式によって計算できる。

$$N_0 = 2H/0.2618$$

$$\sin(H/2) = [A/(\cos \varphi \cos \delta)]^{1/2}$$

$$A = \sin(\pi/4 + (\varphi - \delta + r)/2) \sin(\pi/4 - (\varphi - \delta - r)/2)$$

ここで  $H$  (rad) は、水平屈折度  $r$  ( $=0.01\text{rad}$ ) を考慮した日の出から南中までの時角を表す。

以上の式で計算した全天日射量を以下に示す。

Table D.1 2012 年 3 月実験時の全天日射量

実験日	2012/3/29	2012/3/30	2012/4/2	2012/4/4	2012/4/5
全天日射量(MJ/m <sup>2</sup> /d)	11	10	11	11	11

Table D.2 2013 年 1 月実験時の全天日射量

実験日	2013/1/1	2013/1/2	2013/1/4	2013/1/5	2013/1/6
全天日射量(MJ/m <sup>2</sup> /d)	3.5	3.8	3.5	3.4	3.1

## 参考文献

農業環境技術研究所, 桑形恒男: アメダス地点における全天日射量(日平均)の推定法

[http://cse.naro.affrc.go.jp/ketanaka/model/help/solarradiation/kuwagata/ame\\_sd.pdf](http://cse.naro.affrc.go.jp/ketanaka/model/help/solarradiation/kuwagata/ame_sd.pdf), (2006)



## Appendix E 収着試験で使⽤した河川底質の物理・化学的性状

Table E.1 河川底質の性状<sup>1)</sup>

	鮎喰川底質	田宮川底質
有機炭素量 (%)	0.075	0.87
CEC (meq/100 mL)	2	11
pH	6.7	6.6
平均粒径 (mm)	0.94	0.46
pH 7 でのゼータ電位 (mV)	-28	-31

### 参考文献

- 1) Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., Tamura, I., Hirata, Y., Hayashi, A. Sekizawa, J.: Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments, *Wat. Res.*, **43**, 351-362, (2009).

## Appendix F 毒性試験で利用した培地や飼育水の組成

藻類の培養に用いた OECD 培地の組成を Table F.1 に、オオミジンコの飼育に用いた Elendt M4 培地の組成を Table F.2 に、ニセネコゼミジンコの飼育に用いた硬度添加水の組成を Table F.3 に、セスジユスリカの飼育・試験に用いた人工底質の組成を Table F.4 に示す。

Table F.1 OECD 培地の組成 <sup>1)</sup>

Component	Concentration(mg/L)
NaHCO <sub>3</sub>	50
NH <sub>4</sub> Cl	15
MgCl <sub>2</sub> · 6(H <sub>2</sub> O)	12
CaCl <sub>2</sub> · 2(H <sub>2</sub> O)	18
MgSO <sub>4</sub> · 7(H <sub>2</sub> O)	15
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1.6
FeCl <sub>3</sub> · 6(H <sub>2</sub> O)	0.08
Na <sub>2</sub> EDTA · 2(H <sub>2</sub> O)	0.1
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.18
MnCl <sub>2</sub> · 4(H <sub>2</sub> O)	0.415
ZnCl <sub>2</sub>	0.003
CaCl <sub>2</sub> · 6(H <sub>2</sub> O)	0.0015
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2(H <sub>2</sub> O)	0.0007
CuCl <sub>2</sub> · 2(H <sub>2</sub> O)	0.00001

Table F.2 Elendt M4 培地の組成 <sup>2)</sup>

Component	Concentration(mg/L)
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2.8595
MnCl <sub>2</sub> · 4(H <sub>2</sub> O)	0.3605
LiCl	0.306
RbCl	0.071
SrCl <sub>2</sub> · 6(H <sub>2</sub> O)	0.152
NaBr	0.016
NaMoO <sub>4</sub> · 2(H <sub>2</sub> O)	0.063
CuCl <sub>2</sub> · 2(H <sub>2</sub> O)	0.01675
ZnCl <sub>2</sub>	0.013
CoCl <sub>2</sub> · 6(H <sub>2</sub> O)	0.01
KI	0.00325
Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub>	0.00219
NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	0.000575
CaCl <sub>2</sub> · 2(H <sub>2</sub> O)	293.8
MgSO <sub>4</sub> · 7(H <sub>2</sub> O)	123.3
KCl	5.8
NaHCO <sub>3</sub>	648
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> · 9(H <sub>2</sub> O)	10
NaNO <sub>3</sub>	2.74
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.000143
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.000184
Thiamine hydrochloride	0.075

Table F.3 硬度添加水の組成<sup>3)</sup>

硬度添加水 A	
Component	Concentration(g/L)
NaHCO <sub>3</sub>	10.2
MgSO <sub>4</sub>	6.4
KCl	0.43
硬度添加水 B	
Component	Concentration(g/L)
CaSO <sub>4</sub>	1.6

Table F.4 人工底質の組成<sup>4)</sup>

構成成分	量	割合
珪砂	30g	75%
カオリン	8g	20%
ピートモス	2g	5%
炭酸カルシウム	20mg	0.05%

## 参考文献

- 1) OECD: Alga, growth test. OECD guidelines for testing of chemicals no. 201, (2006).
- 2) OECD: *Daphnia* sp., acute immobilization test and reproduction test. OECD guidelines for testing of chemicals no. 202, (2004).
- 3) USEPA: Dilution water; Standard Synthetic Dilution Water, Standard, Synthetic Freshwater, Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms Fourth Edition, EPA-821-R-02-013, Section 7, (2002).
- 4) OECD: Sediment-water chironomid toxicity test using spiked sediment OECD guidelines for testing of chemicals No.218, (2004).

## Appendix G 毒性試験予備検討結果

本研究で行った毒性試験の再現性確認のため、一例として triclosan の予備試験結果を示す。

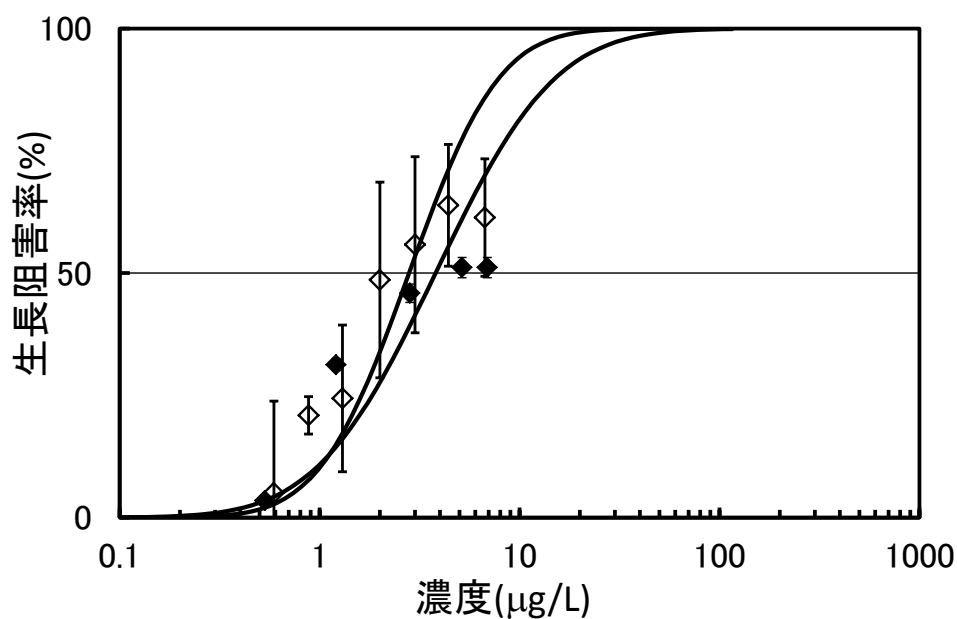


Figure G.1 ムレミカヅキモ生長阻害試験の予備試験結果

(◇: 本研究の結果, ×: 予備試験の結果)

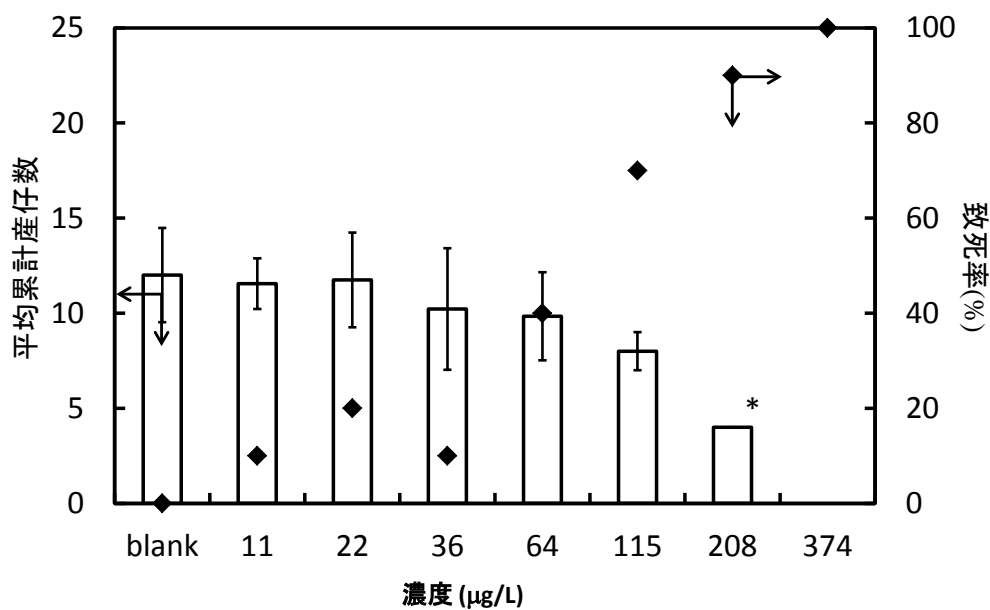


Figure G.2 ニセネコゼミジンコ繁殖阻害試験の予備試験結果

(□: 左側の目盛りで平均累計産仔数, ◆: 右側の目盛りで致死率を表す)

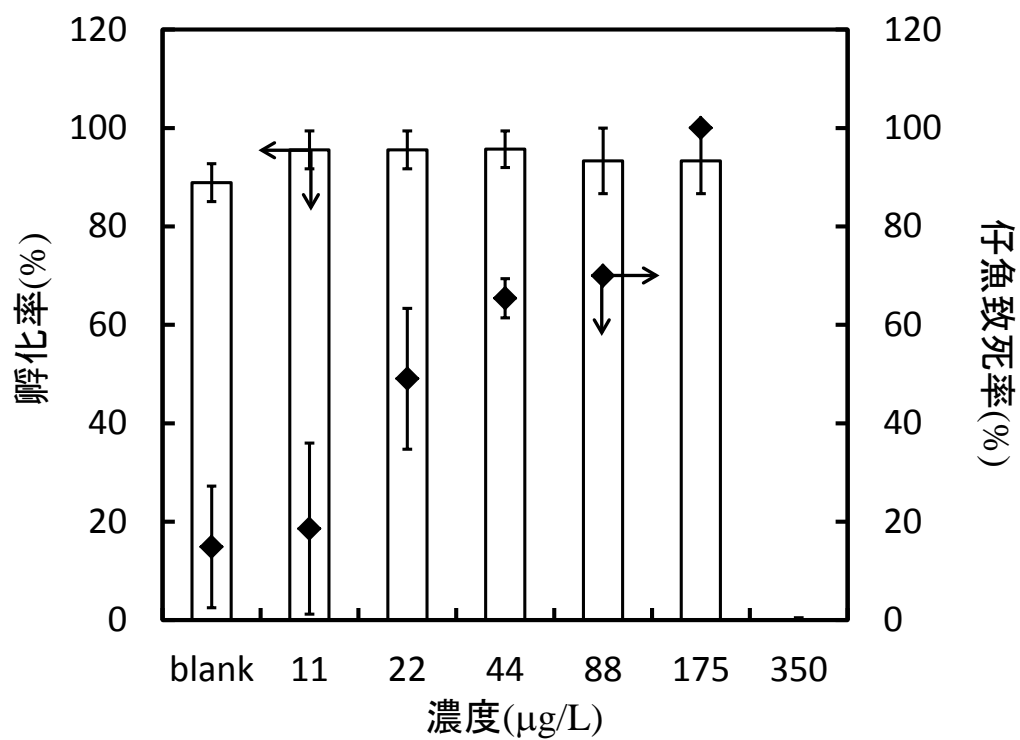


Figure G.3 ゼブラフィッシュの胚・仔魚期毒性試験の予備試験結果,  
(◇:孵化率, ◆:仔魚致死率)

## Appendix H 水生・底生生物を用いた生態毒性試験の文献値

本研究で対象とした防菌・防カビ剤 5 種の急性毒性試験の文献値を Table H.1 に、慢性毒性試験の文献値を Table H.2 に示す。底生生物を用いた毒性試験の文献値を Table H.3 に示す。

Table H.1 防菌・防カビ剤の水生生物に対する急性毒性試験の文献値

物質	生物種	対象生物	曝露時間	エンドポイント	結果	毒性値(μg/L)	文献
triclosan	藻類	<i>Pseudokirneriella subcapitata</i>	72 h	生長阻害	IC <sub>50</sub>	0.53	Yang et al. (2008) <sup>1)</sup>
triclosan	藻類	<i>Pseudokirneriella subcapitata</i>	72 h	生長阻害	IC <sub>50</sub>	4.7	Tatarazako et al. (2004) <sup>2)</sup>
triclosan	藻類	<i>Pseudokirneriella subcapitata</i>	72 h	生長阻害	EC <sub>50</sub>	4.46	Orvos et al.(2002) <sup>3)</sup>
triclosan	甲殻類	<i>Daphnia magna</i>	48 h	遊泳阻害	EC <sub>50</sub>	390	Orvos et al.(2002) <sup>3)</sup>
triclosan	魚類	<i>Pimephales promelas</i>	96 h	致死	LC <sub>50</sub>	260	Orvos et al. (2002) <sup>3)</sup>
triclocarban	藻類	<i>Pseudokirneriella subcapitata</i>	72 h	生長阻害	IC <sub>50</sub>	17	Yang et al. (2008) <sup>1)</sup>
triclocarban	甲殻類	<i>Daphnia magna</i>	48 h	遊泳阻害	LC <sub>50</sub>	10	Springborn Bionomics <sup>4)</sup>
triclocarban	魚類	<i>Oncorhynchus mykiss</i>	96 h	致死	LC <sub>50</sub>	120	TCC consortium <sup>5)</sup>
phenoxyethanol	魚類	<i>Pimephales promelas</i>	96 h	致死	LC <sub>50</sub>	344,000	Office of pesticide programs (2000) <sup>6)</sup>

IC<sub>50</sub>: 50%生長阻害濃度, EC<sub>50</sub>: 50%影響濃度

本研究で得られた triclosan の毒性値は、環境省によるミジンコの慢性試験(繁殖試験)の結果 (NOEC 0.34 μg/L)<sup>7)</sup>と Oliveira ら<sup>3)</sup>による魚類の亜慢性試験結果(6 d-NOEC 300 μg/L)と大きく異なっていた。前者の環境省によるミジンコ試験は界面活性作用のある助剤を用いて試験を実施しているため、triclosan の毒性が過大評価されたことが原因と考えられ、助剤を用いずに測定濃度に基づき算出した本研究結果の方が信頼性は高い。Oliveira らによるゼブラフィッシュの試験は期間が 6 日間と、鋭敏で高感度の応答が得られる仔魚前期での曝露期間が経済協力開発機構テストガイドライン 212 に規定された期間より短いことからため毒性値が過小評価されたと考えられる。triclocarban の毒性値については、急性試験同様に文献値とほぼ同程度であった<sup>5)</sup>。

Table H.2 防菌・防カビ剤の水生生物に対する慢性毒性試験の文献値

物質	生物種	対象生物	曝露時間	エンドポイント	結果	毒性値(μg/L)	文献
triclosan	algae	<i>Pseudokirneriella subcapitata</i>	72 h	生長阻害	NOEC	0.20	Yang et al. (2008) <sup>1)</sup>
triclosan	fish	<i>Danio rerio</i>	9 d	致死	IC <sub>50</sub>	220	Tatarazako et al. (2004) <sup>2)</sup>
triclosan	fish	<i>Oryzias latipes</i>	14 d	致死	IC <sub>50</sub>	400	Tatarazako et al. (2004) <sup>2)</sup>
triclosan	crustacea	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7 d	繁殖阻害	IC <sub>50</sub>	220	Tatarazako et al. (2004) <sup>2)</sup>
triclosan	crustacea	<i>Daphnia magna</i>	21 d	繁殖阻害	NOEC	200	Orvos et al (2002) <sup>3)</sup>
triclosan	crustacea	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7 d	繁殖	NOEC	6	Orvos et al. (2002) <sup>3)</sup>
triclosan	crustacea	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7 d	致死	NOEC	50	Orvos et al. (2002) <sup>3)</sup>
triclosan	fish	<i>Danio rerio</i>	6 d	致死	NOEC	300	Oliveira et al. (2009) <sup>3)</sup>
triclosan	crustacea	<i>Daphnia magna</i>	21 d	繁殖阻害	NOEC	0.34	環境省(1997) <sup>7)</sup>
triclocarban	algae	<i>Pseudokirneriella subcapitata</i>	72 h	生長阻害	NOEC	<10	Yang et al (2008) <sup>1)</sup>
triclocarban	crustacea	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	7 d	繁殖, 致死	NOEC	1.46	TCC Consortium (2002) <sup>5)</sup>

NOEC: 最大無影響濃度

Table H.3 防菌・防カビ剤の底生生物を用いた毒性試験の文献値

物質	生物種	対象生物	曝露時間	エンドポイント	結果	毒性値(μg/L)	文献
triclosan	chironomid	<i>Chironomus riparius</i>	28 d	生存, 羽化	NOEC	440	Memmert et al. (2006) <sup>8)</sup>
triclosan		<i>Chironomus tentans</i>	10 d	生存, 成長	IC <sub>25</sub>	100, 150	Dussault et al. (2008) <sup>9)</sup>
triclosan		<i>Chironomus tentans</i>	10 d	生存, 成長	IC <sub>50</sub>	400, 280	Dussault et al. (2008) <sup>9)</sup>
triclosan	mysid	<i>Hyalella azteca</i>	10 d	生存, 成長	IC <sub>25</sub>	60, 120	Dussault et al. (2008) <sup>9)</sup>
triclosan		<i>Hyalella azteca</i>	10 d	生存, 成長	IC <sub>50</sub>	200, 250	Dussault et al. (2008) <sup>9)</sup>
triclosan	mysid	<i>Americamysis bahia</i>	10 d	致死	LC <sub>50</sub>	256 mg/kg	Perron et al. (2012) <sup>10)</sup>
triclocarban	chironomid	<i>Chironomus sp.</i>	-	-	NOEC	<2760 mg/kg	TCC Consortium (2002) <sup>5)</sup>
triclocarban	mysid	<i>Mysidopsis bahia</i>	28d	繁殖	EC <sub>50</sub>	0.06	TCC Consortium (2002) <sup>5)</sup>

### 参考文献

- 1) Yang LH, Ying GG, Su HC, Stauber JL, Adams MS, Binet MT.: Growth-inhibiting effects of 12 antibacterial agents and their mixtures on the freshwater microalga *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Environ. Toxicol. Chem.* **27**(5) 1201-8, (2008).
- 2) Tatarazako, N., Ishibashi, H., Teshima, K., Kishi, K., Arizono, K.: Effects of triclosan on various aquatic organisms, *Environ. Sci.*, **11**(2) 133-140, (2003).
- 3) Orvos, D.R., Versteeg, D.J., Inauen, J., Capdevielle, M., Rothenstein, A., Cunningham, V.: Aquatic toxicity of triclosan, *Environ. Toxicol. Chem.*, **21**, 1338-1349, (2002).
- 4) Acute toxicity of fourteen phthalate esters to *Daphnia magna* (Final report), Springborn Bionomics, Report. No. BW-84-4-1567.
- 5) The TCC Consortium: High Production Volume (HPV) Chemical Challenge Program Data Availability and Screening Level Assessment for Triclocarban CAS#: 101-20-2, Report 201-14186A (2002).
- 6) USEPA: ECOTOX Database ([http://cfpub.epa.gov/ecotox/advanced\\_query.htm](http://cfpub.epa.gov/ecotox/advanced_query.htm)) (Last Accessed on January 6, 2013).
- 7) 環境省・経済産業省:「平成8年度生態影響試験」, 既存化学物質の生態影響に関する情報, ([http://www.meti.go.jp/policy/chemical\\_management/kasinhou/files/kizon0511/3-2-3.pdf](http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/files/kizon0511/3-2-3.pdf)) (1997).
- 8) Memmert U.: Triclosan: Effects on the development of sediment-dwelling larvae of *Chironomus riparius* in a water-sediment system with spiked sediment. RCC Ltd., Itingen, Switzerland, Report A34896. (2006).
- 9) Dussault, E.V., Balakrishnan, V.K., Sverko, E., Solomon, K.R., Sibley, P.K.: Toxicity of human pharmaceuticals and personal care products to benthic invertebrates, *Environ. Toxicol. Chem.*, **27**, 425-432, (2008).
- 10) Perron, M.M., Ho, K.T., Cantwell, M.G., Burgess, R.M., Pelletier, M.C.: Effects of triclosan on marine benthic and epibenthic organisms. *Environ. Toxicol. Chem.*, **31**, 8, 1861-1866 (2012).

## Appendix I 生態リスク評価に利用した環境水中測定濃度と底質中測定濃度

環境水中濃度(MEC)として、本研究で利用したデータを Table I.1 に示す。また, triclosan, triclocarban の底質中濃度についての文献値は Table I.2 に示す。



Table I.1 防菌・防カビ剤の生態リスク評価に利用した環境中濃度測定値

防菌・防カビ剤	国名	水域の種類	年	濃度範囲 (ng/L)	中央値 (ng/L)	平均値 (ng/L)	採取地点に関する情報	引用文献
triclosan	スイス	河川	2001	11-74		42.5	湖に流れ込む河川 (107,000 人の飲料水源)	Lindström <i>et al.</i> (2002) <sup>1)</sup>
triclosan	日本	河川	2008	<0.6-59.1			河川水の全国調査	Nakada <i>et al.</i> (2008) <sup>2)</sup>
triclosan	米国	河川	2005	60 80			下水処理水の放流口の 1.1 ～3.8 km 下流	Coogan <i>et al.</i> (2007) <sup>3)</sup>
triclosan	スロベニア	河川	2004	68			レクリエーション地区内	Cuderman <i>et al.</i> (2007) <sup>4)</sup>
triclosan	スペイン	河川	2007	<12-285	14	53	下水処理場の 1 km 下流	Kantiani <i>et al.</i> (2008) <sup>5)</sup>
triclosan	英国	河川	2006, 2007	<5-95		48	下水処理場の 3.5～10.5 km 下流	Kasprzyk-Hordern <i>et al.</i> (2008) <sup>6)</sup>
triclosan	日本	河川	2006	11-31			家庭雑排水の放流口の下流	Nishi <i>et al.</i> (2008) <sup>7)</sup>
triclosan	中国	河川	2005, 2006	35-1023			下水処理放流水が直接流れ込む河川	Peng <i>et al.</i> (2008) <sup>8)</sup>
triclosan	日本	河川	2007	31-360	110	150	下水道整備率の異なる地域(下水道未整備地域を含む)	小森ら(2009) <sup>9)</sup>
triclosan	スペイン	河川	2008	24-157		68	都市下水および産業排水が放流されている河川	Gómez <i>et al.</i> (2009) <sup>10)</sup>
triclosan	韓国	河川	2008	1-29 16-82		17 55	大河川 (流量: <90-2100 m <sup>3</sup> /s) 都市小河川(流量: <7-24 m <sup>3</sup> /s)	Yoon <i>et al.</i> (2010) <sup>11)</sup>
triclosan	中国	河川	2007, 2008	<4.1-26.2, 6.5-31.1, 90.2-478	11.9, 16.2, 238	13.7, 16.8, 242	都市河川 (流量 17.3-156 m <sup>3</sup> /s 175-1120 m <sup>3</sup> /s 3.5-5.7 m <sup>3</sup> /s)	Zhao <i>et al.</i> (2010) <sup>12)</sup>
triclosan	インド	河川	2009	8.95-5160	142		家庭排水や工場排水が流入する河川	Ramaswamy <i>et al.</i> <sup>13)</sup> (2011)
triclosan	日本	河川	2010	93-850	230	280	徳島市冷田川	田村ら(2010) <sup>14)</sup>
triclosan	日本	河川	2010, 2011	<2-177	41.3		流域の下水道普及率は 0 to 100% と様々で, 大河川と都市部の中小河川(徳島市田宮川・冷田川)の両方を含む	木村ら(2011) <sup>15)</sup>
triclocarban	米国	河川	2002, 2003	25-5600	81	985	生下水の漏洩により汚染された河川	Halden <i>et al.</i> (2004) <sup>16)</sup>
triclocarban	米国	河川	2005	80 160			下水処理水の放流口の 1.1 ～3.8 km 下流	Coogan <i>et al.</i> (2007) <sup>3)</sup>
triclocarban	米国	河川	2004	0.45-45, 2-250		12 84	下水処理場の上流側 下水処理場の下流側	Sapkota <i>et al.</i> (2007) <sup>17)</sup>
triclocarban	中国	河川	2007 -2010	<3.9-13.9, 4.5-46.2, 68.8-338	6, 17.1, 145	7.4, 19.9, 158	都市河川 (流量 17.3-156 m <sup>3</sup> /s 175-1120 m <sup>3</sup> /s 3.5-5.7 m <sup>3</sup> /s)	Zhao <i>et al.</i> (2010) <sup>12)</sup>

Table I.1 (続き)

<i>p</i> -thymol	日本	河川	2010, 2011	<1.1-715	95.6	流域の下水道普及率は 0 to 100% と様々で, 大河川と都市部の中小河川(徳島市田宮川・冷田川)の両方を含む	木村ら(2011) <sup>15)</sup>
phenoxy-ethanol	日本	河川	2010, 2011	<0.9-14000	139	流域の下水道普及率は 0 to 100% と様々で, 大河川と都市部の中小河川(徳島市田宮川・冷田川)の両方を含む	木村ら(2011) <sup>15)</sup>

Table I.2 防菌・防カビ剤 triclosan と triclocarban の底質中濃度の文献値

防菌・防カビ剤	国名	水域の種別	濃度範囲	採取地点に関する情報	引用文献
triclosan	スイス	湖沼	53 ng/g	下水処理放流水が流入する河川を流域に持つ湖の最上層の底質	Singer et al. (2002) <sup>19)</sup>
	スペイン	河川	4.4 ng/g 35.7 ng/g	スペイン北西部の河川	Morales et al. (2005) <sup>20)</sup>
	中国	河川	<1.9-116 12.2-196 345-1,329 ng/g	生活排水や下水処理放流水の流入する河川	Zhao et al. (2010) <sup>12)</sup>
	米国	河口	0.07 mg/kg (70 ng/g)	下水処理水放流口の400 m上流から100 m下流	Millar et al. (2008) <sup>21)</sup>
	日本	海域	4-1,700 ng/g	東京湾（合流下水道雨天時越流水の放流先）	高田ら (2011) <sup>22)</sup>
	米国	河口	0.7-1.6mg/kg (700-1,600 ng/g)	下水処理水放流口の400 m上流から100 m下流	Millar et al. (2008) <sup>21)</sup>
triclocarban	中国	河川	<1.9-426 58.0-904 748-2,633 ng/g	生活排水や下水処理放流水の流入する河川	Zhao et al. (2010) <sup>12)</sup>
	日本	海域	5-3,000 ng/g	東京湾（合流下水道雨天時越流水の放流先）	高田ら (2011) <sup>22)</sup>

### 参考文献

- 1) Lindström, A., Buerge, I.J., Poiger, T., Bergqvist, P., Muller, M.D., Buser, H.: Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 2322-2329, (2002).
- 2) Nakada, N., Kiri, K., Shinohara, H., Harada, A., Kuroda, K., Takizawa, S., Takada, H.: Evaluation of pharmaceuticals and personal care products as water-soluble molecular markers of sewage, *Environ. Sci. Technol.* **42**, 17, 6347-6353, (2008).
- 3) Coogan, M.A., Edziye, R.E., La Point T.W., Venables, B.J.: Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream, *Chemosphere* **67**, 1911-1918, (2007).
- 4) Cuderman, P., Heath, E.: Determination of UV filters and antimicrobial agents in environmental water samples, *Anal. Bioanal. Chem.*, **387**, 1343-1350, (2007).
- 5) Kantiani, L., Farre, M., Asperger, D., Rubio, F., Gonzalez, S., Alda, M.J.L., Petrovic, M., Shelper, W.L., Barcelo, D.: Triclosan and methyl-triclosan monitoring study in the northeast of Spain using a magnetic particle enzyme immunoassay and confirmatory analysis by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Hydrol.* **361**, 1-9, (2008).
- 6) Kasprzyk-Hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J.: The occurrence of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drug in surface water in South Wales, UK, *Water Res.* **42**, 3498-3518, (2008).
- 7) Nishi, I., Kawakami, T., Onodera, S.: Monitoring of triclosan in the surface water of the Tone Canal, Japan, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **80**, 163-166, (2008).

- 8) Peng, X.Z., Yu, Y.J., Tang, C.M., Tan, J.H., Huang, Q.X., Wang, Z.D.: Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China, *Sci. Total Environ.* **397**, 158–166, (2008).
- 9) 小森行也, 鈴木穰: 「生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態と生態リスク初期評価」, *水環境学会誌*, **32**, 133-138, (2009).
- 10) Gómez, M.J., Gómez-Ramos, M.M., Agüera, A., Mezcua, M., Herrera, S., Fernández-Alba, A.R.: A new gas chromatography/mass spectrometry method for the simultaneous analysis of target and non-target organic contaminants in waters, *J. Chromatogr. A*, **1216**, 4071–4082, (2009).
- 11) Yoon, Y., Ryu, J., Oh, J., Choi, B.G., Snyder, S.A.: Occurrence of endocrine disrupting compounds, pharmaceuticals, and personal care products in the Han River (Seoul, South Korea), *Sci. Total Environ.* **408**, 636–643, (2010).
- 12) Zhao, J.L., Ying, G.G., Liu, Y.S., Chen, F., Yang, J.F. Wang, L.: Occurrence and risks of triclosan and triclocarban in the Pearl River system, South China: from source to the receiving environment, *J. Hazard. Mater.*, **179**, 215-222, (2010).
- 13) Ramaswamy, B.R., Shanmugam, G., Velu, G., Rengarajan, B., Larsson, D.G.J.: GC-MS Analysis and Ecotoxicological Risk Assessment of Triclosan, Carbamazepine and Parabens in Indian Rivers. *J. Hazard. Mater.*, **186**, 1586-1593, (2011).
- 14) 田村生弥, 新田和代, 平田佳子, 山本敦史, 関澤純, 山本裕史: 「下水道未整備地域を流れる小河川における生活関連物質の動態解明と濃度簡易予測モデルの構築, -徳島市冷田川を例として-」, *環境化学*, **20**, 339-349 (2010).
- 15) 木村久美子, 亀田豊, 山本裕史, 中田典秀, 益永茂樹: 「化粧品に使用される防腐剤及び紫外線吸収剤の河川水中における存在実態調査」, *第20回環境化学討論会講演要旨集*, (2011).
- 16) Halden, R.U., Paull, D.H.: Analysis of triclocarban in aquatic samples by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry, *Environ. Sci. Technol.* **38**, 4849–4855, (2004).
- 17) Sapkota, A., Heidler, J., Halden, R.U.: Detection of triclocarban and two co-contaminating chlorocaranilides in US aquatic environments using isotope dilution liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Environ. Res.* **103**, 1, 21–29, (2007).
- 18) Zhong, W., Wang, D., Xu, X., Luo, Q., Wang, B., Shan, X., Wang, Z.: Screening level ecological risk assessment for phenols in surface water of the Taihu Lake, *Chemosphere*, **80**, 9, 998–1005, (2010).
- 19) Singer, H., Müller, S., Tixier, C., Pillonel, L., Mu, S.: Triclosan: occurrence and fate of a widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 23, 4998-5004. (2002).
- 20) Morales, S., Canosa, P., Rodriguez, I., Rubi, E., Cela, R.: Microwave assisted extraction followed by gas chromatography with tandem mass spectrometry for the determination of triclosan and two related chlorophenols in sludge and sediments, *J. Chromatogr. A*, **1082**, 128–135. (2005).
- 21) Miller, T.R., Heidler, J., Chillrud, S.N., Delaquil, A., Richie, J.C., Mihalic, J.N., Bopp, R., Halden, R. U.: Fate of triclosan and evidence for reductive dechlorination of Triclocarban in estuarine sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **42**, 4570–4576, (2008).

- 22) 高田秀重，森本拓也：「東京湾におけるトリクロサン類の分布と動態」，第20回環境化学討論会講演要旨集，(2011).

## Appendix J 本研究で選定した防菌・防カビ剤の生態リスク評価に関する従来研究

本研究で対象とした防菌・防カビ剤についての生態リスク評価については、triclosan と triclocarban の 2 物質についてはいくつか報告があるが、*p*-thymol と phenoxyethanol についてはない。triclosan と triclocarban に関する文献値を Table J.1 に示す。

Table J.1 既報における生態リスク評価

物質	毒性評価	曝露評価	評価結果	判定結果	文献
欧州 GREAT- ER					
triclosan	SSD 14 種の水生生物の NOEC or IC <sub>25</sub> を使用 PNEC 1.55 µg/L	90 パーセントアル 180 ng/L 平均 100 ng/L 北米 PhATE 最大 850 ng/L		高感受性種が下水放流水直下においてたとしても PEC/PNEC は 1 を超えずリスクは低い	Capdevielle et al. (2008) <sup>1)</sup>
triclosan	藻類 72 h EC <sub>50</sub> 2.8 µg/L/100=0.028 µg/L	安全側予測環境中濃度 0.035 µg/L 千葉県の下水道未整備地域の最大濃度 360 ng/L	1.3	より詳細な評価が必要	環境省, (2007) <sup>2)</sup>
triclosan	甲殻類, 0.34/100=0.0034 µg/L		106	今後さらに調査を進める必要あり	小森ら (2009) <sup>3)</sup>
triclosan	無脊椎動物 EC <sub>25</sub> 60 µg/L 魚類 LOEC 71.3 µg/L 藻類 LOEC 0.12 µg/L		無脊椎動物 0.038 魚類 0.032 藻類 19.167	ワーストケースシナリオで過大評価している可能性があるため、より詳細な検討が必要	Brausch and Rand (2011) <sup>4)</sup>
triclosan	SSD HC <sub>5</sub>	95 パーセントアル		リスクは低い	Lyndall et al. <sup>5)</sup>
triclocarban	1.46 µg/L/10= 0.146	測定値 50 ng/L	0.34	リスクは低い	TCC Consortium <sup>6)</sup> (2002)
triclocarban	無脊椎動物 EC <sub>25</sub> 0.13 µg/L	1425 ng/L	10.962	ワーストケースシナリオで過大評価している可能性があるため、より詳細な検討が必要	Braush and Rand(2010) <sup>4)</sup>

環境省のリスク初期評価書によるハザード比は藻類の急性毒性値を用いてアセスメント係数 100 で 1.3<sup>2)</sup>と報告されている。小森ら<sup>3)</sup>も triclosan について、千葉県の下水道未整備地域について値は算出しているが、環境省が公表している信頼性の低いミジンコの毒性値のみに基づき、アセスメント係数 100 (3 種の慢性試験結果があるので本来は 10 のはず) で除した予備的な結果でありハザード比は 106 となっているがこれは過大評価の可能性が高い。本研究の毒性値をもとに、再計算するとハザード比は最大でも 0.68 であり、田宮川の最大値とほぼ同等であった。Brausch と Rand の総説におけるハザード比(アセスメント係数はなし)の試算の最大値は 18<sup>4)</sup>であり、本研究の結果で算出した値よりもやや高いが、ともにより詳細にリスク評価を行う必要がある点で共通している。より詳細な環境中濃度の検索や信頼度の高い生態毒性値を利用している点では、本研究の方が正確度は高いと考えられる。一方 Lyndall ら<sup>5)</sup>は、表層水検出濃度の 95 パーセントアル値と種間感受性分布(Species Sensitivity Distribution: SSD)をモデル計算し、5%が影響を受ける濃

度(95%の種は安全な濃度: HC<sub>5</sub>)を比較した結果, HC<sub>5</sub>は MEC の 95 パーセンタイル値を下回っていて, リスクは低いとしている。SSD 分析から算出された HC<sub>5</sub>はしばしばリスク評価に使用されるが, Monostyla/Philodina などの感受性の高い一部の種には悪影響がある可能性があり<sup>5)</sup>, 感受性の高い種の保全が必要な水域については, そのリスク判定や管理は慎重に行わなければならない。

米国の産官の共同プロジェクトである TCC Consortium<sup>6)</sup>によるリスク評価では, triclocarban のハザード比は 0.34 で 1 以下であるため, リスクは低いと判定されている。しかし, この評価に使用されている環境中濃度(MEC)の最大値は 50 ng/L と非常に低く, 実際の環境中濃度はもう少し高いレベルでの検出報告も多くあるために危険側に評価している可能性が高い。本研究でリスク評価に使用した文献(Table I.1)の中には最大で数千 ng/L という高濃度で検出されている地点もあり, ハザード比も 1 を超える場合が多数確認された。Brausch と Rand<sup>4)</sup>によって報告されているハザード比の最大値も 10 を超えており, 水生生物への影響が懸念されることから, triclosan と並んで今後より詳細なリスク評価および管理が必要である物質であることは間違いない。p-thymol と phenoxyethanol については, これまで生態リスク評価結果を報告した例はない。

## 参考文献

- 1) Capdevielle1, M., Egmond, R. V., Whelan, M., Versteeg D., Hofmann-Kamensky, M., Inauen, J., Cunningham, V., Woltering D.: Consideration of Exposure and Species Sensitivity of Triclosan in the Freshwater, *Integr. Environ. Assess. Manag.*, **4**(1), 15-23, (2008).
- 2) 環境省:「化学物質の環境リスク評価」, 第7巻, (2009).
- 3) 小森行也, 鈴木穰:「生活排水の処理状況が異なる都市域小河川における医薬品の存在実態と生態リスク初期評価」, *水環境学会誌*, **32**, 133-138, (2009).
- 4) Brausch, J.M. and Rand, G.M.: A review of personal care products in the aquatic environment: environmental concentrations and toxicity, *Chemosphere*, **82**, 1518-1532, (2011).
- 5) Lyndall, J., Fuchsman, P., Bock, M., Barber, T., Lauren, D., Leigh, K., Perruchon, E., Capdeviella M.: Probabilistic risk evaluation for triclosan in surface water, sediments, and aquatic biota tissues, *Integr. Environ. Assess. Manag.*, **6**, 419-40, (2010).
- 6) The TCC Consortium: High Production Volume (HPV) Chemical Challenge Program Data Availability and Screening Level Assessment for Triclocarban CAS#: 101-20-2, Report 201-14186A (2002).

## 本論文の基礎となる発表論文(主論文)

- 主論文 1: 田村生弥, 山本裕史: 防菌防黴剤の河川環境中における生分解・光分解と底質への収着, *環境化学*, **22**(3), 113-119 (2012).

[第 2 章に関連]

- 主論文 2: Tamura, I., Kagota, K., Yasuda, Y., Yoneda, S., Morita, J., Nakada, N., Kameda, Y., Kimura, K., Tatarazako, N., Yamamoto, H.: Ecotoxicity and screening level ecotoxicological risk assessment of five antimicrobial agents: triclosan, triclocarban, resorcinol, phenoxyethanol and p-thymol, *Journal of Applied Toxicology*, in press. (DOI: 10.1002/jat.2771)

[第 3 章に関連]

- 主論文 3: Tamura, I., Kimura, K., Kameda Y., Nakada N., Yamamoto, H.: Ecological risk assessment of urban creek sediments contaminated by untreated domestic wastewater: potential contribution of antimicrobials and a musk fragrance, *Environmental Technology*, **34**(12), 1567-1575 (2013).

[第 4 章に関連]



## 本論文に関係あるその他の論文

- 田村生弥，新田和代，平田佳子，山本敦史，関澤純，山本裕史：下水道未整備地域を流れる小河川における生活関連物質の動態解明と濃度簡易予測モデルの構築， - 徳島市冷田川を例として-，*環境化学*, **20**, 339-349 (2010).

## その他の論文

- 田村生弥, 太田美菜子, 関澤純, 山本裕史: 下水道未普及地域における河川生物膜による直鎖アルキルベンゼンスルホン酸浄化作用の評価, *環境工学研究論文集*, **44**, 127-134 (2007).
- Yamamoto, H., Nakamura, Y., Moriguchi, S., Nakamura, Y., **Tamura, I.**, Hirata, Y., Hayashi, A. Sekizawa, J.: Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: Laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments, *Water Research*, **43**, 351-362 (2009).
- 山本裕史, 安部香緒里, 池幡佳織, 安田侑右, 田村生弥, 中村友紀, 鑓迫典久, : 徳島県内の下水処理施設放流水を対象にした WET 試験, *環境工学研究論文集*, **47**, 727-734 (2010).
- Yamamoto, H., **Tamura, I.**, Hirata, Y., Kato J., Kagota K., Katsuki S., Yamamoto A., Kagami, Y., Tatarazako N.: Aquatic toxicity and ecological risk assessment of seven parabens: individual and additive approach. *Science of the Total Environment*, **410-411**, 102-111 (2011).
- **Tamura, I.**, Saito, M., Nishimura, Y., Satoh, M., Yamamoto, H., Oyama, Y.: Elevation of Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  Level by Triclosan in Rat Thymic Lymphocytes: Increase in Membrane  $\text{Ca}^{2+}$  Permeability and Induction of Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  Release. *Journal of Health Science*, **57**(6), 540-546 (2011).
- 安田侑右, 米多佐織, 田村生弥, 駕田啓一郎, 中田典秀, 花本征也, 亀田豊, 木村久美子, 鑓迫典久, 山本裕史: 生活排水に汚染された河川水に対する短期慢性毒性試験, *土木学会論文集 G (環境)*, **67**(7), III\_249-III\_256 (2011).
- **Tamura, I.**, Kanbara, Y., Saito, M., Horimoto, K., Satoh, M., Yamamoto, H., Oyama, Y.: Triclosan, an antibacterial agent, increases intracellular  $\text{Zn}^{2+}$  concentration in rat thymocytes: its relation to oxidative stress. *Chemosphere*, **86**(1), 70-75 (2012).
- 森田隼平, 安田侑右, 駕田啓一郎, 田村生弥, 鑓迫典久, 山本裕史: 水生生物 3 種を用いた全国一級河川の短期慢性毒性試験, *土木学会論文集 G (環境)*, **68**(7), III\_217-III\_225 (2012).

## 謝 辞

本研究を遂行するにあたり，御懇篤なる御指導，御鞭撻を賜りました徳島大学大学院ソシオ・アート・アンド・サイエンス研究部 山本裕史准教授に心より感謝を申し上げます。

また，本論文執筆にあたって，御懇篤なる御指導，御助言を賜りました徳島大学大学院ソシオ・アート・アンド・サイエンス研究部 今井昭二教授，増田俊哉教授，小山保夫教授に深甚なる感謝の意を表します。

本研究で濃度測定にあたり，御支援，御助言賜りましたさいたま市健康科学研究センター 木村久美子主任，千葉工業大学工学部建築都市環境学科 亀田豊助教，京都大学工学研究科付属流域圏総合環境質研究センター 中田典秀助教に深く感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり，国立環境研究所環境リスク研究センター 鑑迫典久主任研究員には折に触れて貴重な御助言を賜りました。深く感謝申し上げます。

至らない私ですが，皆様からのお力添えにより本論文を執筆することができました。末筆ではありますが，本研究の遂行および本論文の執筆に御支援賜りましたすべての方に深く感謝申し上げます。

2013 年 9 月